

VILBERTO JOSÉ VIEIRA

**ANÁLISE DA RESPOSTA CELULAR E INFLAMATÓRIA
ASSOCIADA AO TECIDO CONJUNTIVO NEOFORMADO
INDUZIDA PELA IMPLANTAÇÃO SUBCUTÂNEA DE
PRÓTESE DE SILICONE TEXTURIZADA OU REVESTIDA
COM POLIURETANO EM RATAS**

**Dissertação de Mestrado apresentada ao
Curso de Pós Graduação em Ciências
Médicas da Universidade Federal de Santa
Catarina, como requisito para obtenção do
título de Mestre em Ciências Médicas**

Florianópolis/SC

2010

VILBERTO JOSÉ VIEIRA

**ANÁLISE DA RESPOSTA CELULAR E INFLAMATÓRIA
ASSOCIADA AO TECIDO CONJUNTIVO NEOFORMADO
INDUZIDA PELA IMPLANTAÇÃO SUBCUTÂNEA DE
PRÓTESE DE SILICONE TEXTURIZADA OU REVESTIDA
COM POLIURETANO EM RATAS**

**Dissertação de Mestrado apresentada ao
Curso de Pós Graduação em Ciências
Médicas da Universidade Federal de Santa
Catarina, como requisito para obtenção do
título de Mestre em Ciências Médicas**

**Coordenadora do Curso de Pós Graduação em Ciências Médicas:
MARCIA MARGARET MENEZES PIZZICHINI**

**Orientador:
ARMANDO JOSÉ d'ACAMPORA**

Florianópolis/SC

2010

DEDICATÓRIA

À minha esposa Analita, pela paciência e carinho.

Aos meus filhos Augusto e Tiago, partes do meu legado ao futuro.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Professor Dr. Armando José d'Acampora, meu muito obrigado pelo estímulo, paciência e perseverança durante todo o tempo do Mestrado.

Ao Dr. Rodrigo d'Eça Neves, Chefe do Serviço de Cirurgia Plástica do Hospital Universitário (HU) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), amigo e provedor de idéias e atitudes positivas.

À Dra. Cláudia Pinto Figueiredo, pela valiosa cooperação e empenho prestados durante o desenvolvimento desta dissertação.

Aos veterinários Geraldo Jorge Severgnini Bernardes e Sandro Melim Sgrott, pela dedicação e pelos cuidados com os animais da experimentação.

Ao Dr. José Caldeira Bastos, pela realização dos cortes histopatológicos.

Ao Dr. Newton Macuco Capella, pelo apoio e estímulo para a realização desta dissertação

Ao Dr. Lucas Félix Rossi e à Dra. Renata Ribeiro Ramos, pelo auxílio prestado para a execução do projeto da dissertação.

Ao Dr. Arthur Koerich d'Avila, pelo auxílio no período experimental do trabalho.

Aos Drs. Jorge Bins-Ely e Zulmar Aciolli de Vasconcellos, professores do Serviço de Cirurgia Plástica do Hospital Universitário (HU) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), pela colaboração durante a elaboração desta dissertação.

Ao Luiz Henrique Prazeres, pela desinteressada ajuda prestada no laboratório da Técnica Operatória e Cirurgia Experimental (TOCE) em meses de trabalho de pesquisa.

Às Dras. Ana Beatriz W. Marcos e Gabriella Di Giunta Jorge, pelo auxílio no estudo e na análise histológica.

Ao professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, especialmente aos professores Emilio Pizzichini, Fernando Mendes Azevedo, Marcia Pizzichini, Maria Marlene de Souza Pires, Mário Sergio Soares Coutinho, Paulo Freitas, Pierre Galvagni Silveira, Ricardo Tramonte, Roger Walz, Suely Groessman e Tânia Silva Frode, pelos

conhecimentos preciosos fornecidos durante as disciplinas e pelas dúvidas solucionadas durante o período do Mestrado.

Aos colegas de Mestrado pelo auxílio mútuo e estímulo para o término desta dissertação.

Ao Sr. Ivo Dedicácio, Secretário do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, pelo prestimoso apoio.

À Sra. Susana Luciano de Oliveira Picollo, Secretária da Sociedade Brasileira de Cirurgia Plástica, Regional de Santa Catarina, pelos seus valiosos préstimos.

À SILIMED® - Silicone e Instrumental Médico-Cirúrgico e Hospitalar Ltda, na pessoa da Sr^a. Dirlene Martini, pelo apoio no fornecimento dos implantes mamários, sem os quais este estudo não seria possível.

Aos meus ancestrais, que se perderam no tempo, mas deixaram seus genes.

À minha mãe, Vilca Marlene Merizio, que me deu vida, iniciou e acompanhou minha educação, e que realizou a revisão gramatical desta dissertação.

Ao meu pai, Adalberto José Vieira, que me ensinou o que é honra, caráter e dedicação à Medicina.

RESUMO

A contratura capsular é a complicação mais comum associada ao uso de implantes mamários de silicone. A superfície do implante é um dos fatores associados à ocorrência de contratura capsular. Este estudo experimental avaliou as diferenças nas características morfológicas e moleculares da cápsula formada ao redor de implantes revestidos de poliuretano comparados aos de superfície texturizada em ratas Wistar, principalmente as modificações na angiogênese, na expressão do VEGF e sua relação com os níveis de TGF- β e α -SMA. As cápsulas dos implantes revestidos de poliuretano foram significativamente mais espessas do que as de superfície texturizada nos dois períodos avaliados. Essa diferença ocorreu principalmente às custas do tecido conjuntivo neoformado. O tecido conjuntivo neoformado adjacente aos implantes revestidos de poliuretano foi mais celular, irregular e vascularizado quando comparado aos implantes de superfície texturizada. As fibras de colágeno nos implantes texturizados aparentam ser mais contínuas e alinhadas em relação aos implantes revestidos de poliuretano. A análise imunohistoquímica revelou elevados níveis de TGF- β e VEGF nas cápsulas em torno dos implantes revestidos por poliuretano quando comparados aos de superfície texturizada. Não se evidenciou diferença na expressão de α -SMA, entre os implantes revestidos de poliuretano e texturizados após 90 dias. Esses achados sugerem que a maior expressão de VEGF ao redor das próteses induzidas pelos cristais de poliuretano teria a capacidade de aumentar a vascularização tissular, resultando numa cápsula mais macia se comparada aos implantes de superfície texturizada.

Palavras-chave: Angiogêneses; Tecido Fibroso; Fatores de Crescimento; Inflamação; Poliuretano; Elastômero de silicone.

ABSTRACT

Capsular contracture is one of the most common complications associated with silicone breast implants. The surface of the implant is one of the factors often associated with the occurrence of capsular contracture. Thus, this study evaluated the differences in morphological and molecular characteristics of the capsule formed around polyurethane-coated versus textured surface-silicone implants in rats, mainly the modifications in angiogenesis and the VEGF expression. The capsules around the polyurethane-coated silicone prosthesis were significantly thicker than the textured surface-silicone implant 30 and 90 days after surgery. Furthermore, the layer adjacent to the polyurethane-coated silicone implant was more cellular and irregular than the layer around the textured surface-silicone implant. Textured implant periprosthetic capsules presented less inflammatory cells and vascularization than the polyurethane-coated silicone implant. The collagen layer of periprosthetic tissue of textured implants appears to be more continuous and parallel-aligned than polyurethane-coated implants. Immunohistochemical analysis revealed high levels of TGF- β and VEGF in the capsules around the polyurethane-coated silicone implants when compared with the textured surface silicone implants. These findings suggest that the higher VEGF expression surrounding the prostheses induced by polyurethane crystals, therefore, were able to increase the tissue vascularization, resulting in a softer capsule compared with the textured surface-silicone implant.

Key words: Angiogenesis, Fibrous tissue, Growth factors, Inflammation, Polyurethane, Silicone elastomer.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

α - SMA - Actina alfa positiva de músculo liso de fibroblastos
ANG II - Sistema renina-angiotensina aldosterona
CGCE - Células gigantes de corpo estranho
COX-2 - Ciclo-oxigenase-2
e.pm. – Erro padrão da média
EUA - Estados Unidos
FDA - Food and Drug Administration
HCL – Ácido clorídrico
HE – Hematoxilina-eosina
Ig G -Imunoglobulina G
IL-1 - Interleucina-1
IL-6 - Interleucina-6
IL-13 -Interleucina -13
IL-21 - Interleucina -21
I κ B – Inibidor do NF κ B
MDA - Metilenodianilina
MPO - Melo peroxidase
NF- κ B - Fator nuclear kappa Beta
NIH -National Institutes of Health's
OD - Optical density
PAMPS - Padrões moleculares associados a patógenos
PDGF - Fator de crescimento derivado de plaquetas
PEA – Proteínas da fase aguda
PPARs - Receptores ativados proliferador de peroxissomos
PG - Prostaglandinas
PST - Prótese de silicone texturizada
PSP – Prótese de silicone revestida de poliuretano
PubMed - Publicações Médicas - US National Library of Medicine
SAP - Proteína da fase aguda
Scielo - Scientific Eletronic Library Online

SD - Standard deviation

TDA - 2,4 e 2,6-tolueno-diisocianato diamina

TDI - Toluenodiisocianato

TGF- β - Fator de crescimento transformador beta

TLR – Toll like receptors

TNF - Fator de necrose tumoral

TOCE – Técnica Operatória e Cirurgia Experimental

VEGF - Fator de crescimento endotelial vascular

Lista de Figuras

Figura 1 Representação estrutural do polímero de silicone	9
Figura 2 Reação de produção dos poliuretanos	11
Figura 3 Esquerda: mini-implante texturizado. Direita: mini-implante revestido de poliuretano	29
Figura 4 Esquerda: mini-implante texturizado. Direita: mini-implante revestido de poliuretano	30
Figura 5 Fixação em placa de madeira	31
Figura 6 Diérese com bisturi	31
Figura 7 Dierese com tesoura	31
Figura 8 Inserção do implante	32
Figura 9 Inserção do implante	32
Figura 10 Inserção do implante	32
Figura 11 e 12 Implante na loja e sutura com fio Mononylon®	33
Figura 13 Aspecto Final	33
Figura 14 e 15 Incisão em bloco com 2 cm de margem de tecido peri-implante.....	34
Figura 16 Corte no meridiano das peças cirúrgicas	35
Figura 17 Espessura periprostética observada sob microscopia óptica convencional	42
Figura 18 Tecido periprostético observado sob microscopia óptica, utilizando luz polarizada	43
Figura 19 Morfologia do tecido periprostética observado sob microscopia óptica convencional	44
Figura 20 Vascularização e células inflamatórias do tecido pericapsular	45
Figura 21 Análise imunohistoquímica para TGF- β no tecido capsular ao redor de minipróteses revestidas de poliuretano e texturizadas.....	46
Figura 22 Análise imunohistoquímica para α -SMA no tecido capsular ao redor das minipróteses revestidas de poliuretano e texturizadas.....	47
Figura 23 Análise imunohistoquímica para VEGF no tecido capsular ao redor das minipróteses revestidas de poliuretano e texturizadas.....	48

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
1.1 Considerações Gerais e Aspectos Históricos	12
1.2 Silicone	15
1.3 Poliuretano	16
1.4 Contratura Capsular	19
1.5 Biomateriais e Processo Inflamatório	21
2 OBJETIVOS	29
2.1 Objetivo Geral	29
2.2 Objetivos Específicos	29
3. METODO	30
3.1 Amostra	30
3.2 Implantes	31
3.3 Procedimentos Anestésicos	32
3.4 Procedimentos Operatórios	33
3.5 Pós Operatório e Seguimento	37
3.6 Eutanásia e remoção da peça cirúrgica em monobloco	37
3.7 Processamento Histológico das Amostras	38
3.7.1 Análise Histológica	40
3.7.2 Análise Imunohistoquímica	41
3.7.3 Análise Estatística	42
4. RESULTADOS	43
5. DISCUSSÃO	52
6. CONCLUSÕES	58
7. REFERÊNCIAS	59
8. APÊNDICES	67

1 INTRODUÇÃO

1.1 Considerações Gerais e Aspectos Históricos

A cirurgia plástica vem expressando avanços importantes nas últimas décadas, seja em relação ao desenvolvimento de novas técnicas cirúrgicas ou na pesquisa e elaboração de novos materiais empregados como substitutos de órgãos e tecidos (biomateriais). A implantação de próteses mamárias de silicone gel torna-se cada vez mais frequente, sendo utilizada para fins estéticos e reparadores.

O primeiro relato de mamoplastia de aumento foi publicado em 1895 por Czerny, referindo a transferência de um lipoma gigante para a mama¹. Até pouco mais da metade do século XX, foram inúmeras as tentativas mal sucedidas de aumento das mamas, valendo-se dos mais variados tipos de tecidos autólogos (enxertos de gordura, derme)². Na década de cinquenta, realizaram-se as primeiras cirurgias de aumento de mamas, a partir de retalhos da própria mama³ e/ou de substâncias injetáveis, como gel de petróleo, cera de abelha, goma laca e resina de epóxi⁴. O silicone injetável foi utilizado pela primeira vez para aumento das mamas por Uchida (1961)⁵, seguido da utilização de materiais sólidos, como poliuretano, *Teflon* e esponja de *Ivalon* (formaldeído de álcool polivinil). Entretanto, nenhum desses métodos provou ser satisfatório. Somente com a introdução dos implantes de silicone gel, em 1962, por Cronin e Gerow (1963)⁶, iniciou-se a era moderna da mamoplastia de aumento⁴.

A utilização das primeiras próteses mamárias, constituídas de silicone gel⁶, difundiu-se rapidamente por apresentar resultados satisfatórios imediatos^{2,6,14}. Contudo, o aumento do número de cirurgias utilizando implantes preenchidos de silicone gel, associado a uma avaliação em longo prazo das possíveis complicações inerentes ao procedimento, demonstrou que esses implantes poderiam alterar a forma e a consistência das mamas, decorrente da ocorrência de contratura da cápsula fibrosa que envolvia a prótese. Essas complicações resultaram no desenvolvimento de novas próteses mamárias^{2,10,11,14}.

Em 1970, Ashley¹⁵ publicou um estudo descrevendo um novo implante mamário de silicone gel revestido por uma fina camada de poliuretano^{2,4,9,16,19}. A espuma de poliuretano foi inicialmente utilizada pela sua propriedade de aderência aos tecidos, dispensando a necessidade de elementos de fixação no implante; mas seu sucesso foi devido à observação de baixa incidência de contratura capsular⁴. As próteses revestidas

com poliuretano passaram a ser empregadas com grande frequência nos casos de aumento e reconstrução das mamas, em função da baixa incidência de contraturas capsulares com a sua utilização^{9,11,17,19,22}. Posteriormente, algumas modificações foram introduzidas nos implantes revestidos de poliuretano (alteração da espessura da superfície do poliuretano, da densidade do gel de preenchimento, da forma do implante). As próteses revestidas de poliuretano comercializadas atualmente possuem cobertura de poliuretano mais fina quando comparada com os modelos iniciais. A fixação da espuma de poliuretano é realizada através de vulcanização e não mais com cola adesiva. Além disso, atualmente, o gel de preenchimento dessas próteses é mais coesivo¹⁹.

Os implantes revestidos de poliuretano atingiram o ápice da popularidade nos anos 90, sendo implantadas aproximadamente 110.000 próteses de poliuretano nos EUA, até 1992²³. Nessa mesma época, surgiram os questionamentos relacionados à toxicidade dos produtos de degradação do poliuretano. Apesar dos estudos de toxicidade não se mostrarem conclusivos, esse fato resultou na retirada voluntária dos implantes de poliuretano do mercado nos EUA, pela empresa Bristol Myers Squibb. Entretanto, as próteses de silicone revestidas com poliuretano, continuam sendo comercializadas e utilizadas em vários países da Europa e da América do Sul²³.

Desde o seu desenvolvimento em 1962, os implantes mamários de silicone passaram por cinco gerações⁴. A primeira geração de implantes mamários, utilizada no período compreendido entre 1960 e 1970, consistia de uma superfície lisa e espessa, com camada envoltória dupla, contendo um gel altamente viscoso e um elemento de fixação composto por Dacron (poliéster, um subproduto do poliuretano), com o objetivo de manter o implante na parede torácica com auxílio de fio de sutura cirúrgico^{4,24}.

A segunda geração de implantes foi utilizada entre 1970 e 1982. Esses implantes consistiam de um envoltório da membrana de superfície lisa mais fina que a da geração anterior e de um silicone de preenchimento também mais fino, quase líquido^{4,24}. No entanto, demonstraram uma ocorrência significativa de extravasamento do silicone (*bleed*), associado à rotura da membrana envoltória, além de alto índice de contraturas capsulares⁴.

Assim sendo, surgiu a terceira geração de próteses de silicone, utilizadas no período de 1982 a 1992. Essas próteses apresentavam membranas envoltórias com superfície espessa e lisa, com baixa permeabilidade (*low bleed shell*), com formato

redondo; eram compostas por gel mais viscoso que as anteriores. Eram desprovidas de elemento de fixação⁴. Essas próteses foram desenvolvidas com o objetivo de melhorar a resistência e a integridade da membrana envoltória e minimizar o fenômeno de extravasamento do silicone. Esses implantes caracterizavam-se por duas camadas de elastômeros (membrana envoltória) com uma fina membrana de fluorossilicone, de barreira entre elas. Não existem, porém, estudos definitivos que associem esses melhoramentos ao aumento da durabilidade (sobrevida) do implante ou à diminuição das taxas de contratura capsular⁴.

Os implantes de terceira geração com aplicação de texturização em sua superfície são considerados a quarta geração de implantes, sendo comercializados desde 1993 até os dias atuais. Esses implantes apresentam membrana envoltória espessa, forte e com baixa permeabilidade ao silicone, podendo ter superfície lisa ou texturizada, formato redondo e anatômico (forma de gota), com silicone gel mais viscoso⁴. A quarta geração, tem como principal característica o gel coesivo. A quinta geração de implantes é caracterizada pelo uso do gel com coesividade reforçada em relação aos implantes de quarta geração. Essa formulação de gel mantém sua forma e, ao mesmo tempo, consistência semelhante a mama a palpação^{4,24}.

A texturização da superfície dos implantes foi decorrente da experiência com os implantes revestidos de espuma de poliuretano, utilizados desde 1970 por Ashley (1970)¹⁵ indicando que os implantes rugosos resultavam em menores taxas de contraturas capsulares. As próteses com superfície texturizadas demonstraram serem eficazes na redução das contraturas⁴. O revestimento das próteses revestidas com poliuretano é degradado e parcialmente incorporado à cápsula. Atualmente, especula-se que os benefícios dos implantes de poliuretano estejam relacionados aos efeitos bioquímicos do material na cápsula e não à textura da superfície da prótese²⁵.

Apesar da evolução das próteses de silicone e dos procedimentos cirúrgicos, o uso dos implantes mamários ainda está associado a complicações, como hematoma, seroma, infecção, ruptura, extravasamento de silicone, alterações da sensibilidade, dor crônica, mau posicionamento, contratura capsular e enrugamento da pele^{2, 8, 12, 13, 20, 23, 26, 27}. A complicação local mais frequente da mamoplastia de aumento é a ocorrência de contratura capsular, sendo uma das principais causas de reoperação após a implantação^{2, 7, 9, 13, 14, 16, 17, 20, 21, 23-35}.

Estudos recentes com implantes texturizados de quinta geração, compostos de gel fortemente coesivo manufaturados por duas empresas atuantes no mercado americano, demonstraram taxas de contratura capsular de 0,8% (36) e 1,9 % (37) respectivamente, com seguimento pós-operatório de 2 e 3 anos. Esses dados demonstram a segurança e a eficácia desses implantes de quinta geração⁴.

1.2 Silicone

O silicone tem sido amplamente empregado em diversas áreas da medicina, puro ou associado a outros polímeros, mostrando biossegurança³⁸ e biocompatibilidade³⁹ em diferentes utilizações. Desde a sua introdução, os implantes de silicone têm sido largamente utilizados para aumento ou reconstrução das mamas. Essa cirurgia tornou-se um dos procedimentos mais realizados pelos cirurgiões plásticos. Poucos materiais médicos foram tão rigorosamente estudados a respeito de sua segurança como os implantes de silicone gel^{7, 8, 26}.

O silicone é um polímero composto por matriz inorgânica de silício e oxigênio (...-Si-OSi-O-Si-O...) intercalado com grupos orgânicos – metil, etil e fenil – ligados ao átomo de silício tetravalente, cuja fórmula química é $[R_2SiO]_n$, onde o R é a denominação dos grupos orgânicos, conforme ilustrado na figura 1A.

O silicone é obtido pela transformação da areia de quartzo em silício metálico quando submetida à alta temperatura. O silício é quimicamente transformado em silanos e siloxanos, produtos de síntese de polímeros. Variações no tamanho da cadeia –Si-O-, nos grupos laterais e nas ligações transversais, fornecem diferentes propriedades químicas e físicas ao polímero, como óleo de silicone (moléculas menores), gel de silicone ou elastômero de silicone (moléculas maiores com ligações cruzadas semelhantes às encontradas no quartzo, no vidro e na areia) (Fig. 1B e 1 C).

Como características principais, o elastômero resiste a temperaturas extremas (-80°C a 400°C), à decomposição pela água, aos agentes oxidantes e ao ozônio, apresentando inércia química e fisiológica; é moldável e elástico, com deformação permanente, resistindo à tração, estiramento e compressão, também possui propriedades condutivas e isolantes. Além disso, o silicone apresentar outras propriedades requeridas aos biomateriais como pouca hidrofília, baixo grau de degradação em sistemas biológicos, elasticidade e permite fácil esterilização⁴⁰.

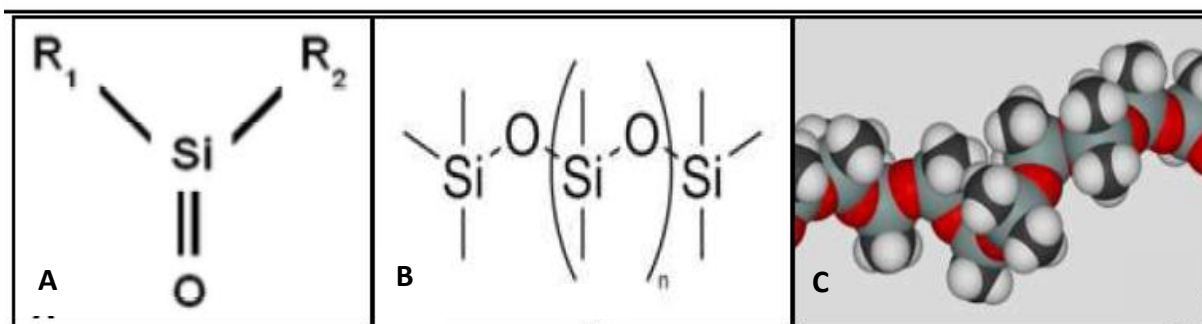


Figura 1 – Representação estrutural do polímero de silicone. (A) Matriz de silício e oxigênio, onde R1 e R2 representam radicais etil, metil ou fenil, que podem estar ligados ao Si. (B) Representação química do polímero de silicone e (C) representação tridimensional do polímero de silicone

FONTE: Nogueira, MP. Uso do silicone e poliuretano na uretroplastia dorsal: estudo experimental em coelhos. FMUSP/SP.

O silicone de preenchimento, substituído pelo silicone de consistência tipo gel, visou o desenvolvimento de implantes mamários com capacidade de adaptação ao tecido humano, mantendo suas características originais e evitando o enrijecimento e deformação das mamas reconstituídas. Mantém a forma e a consistência da mama à palpação, além de apresentar maior coesividade entre suas moléculas e possuir cadeias cruzadas (*cross-linked*) de polímeros de silicone (vulcanização) no envoltório de elastômero, sendo capaz de diminuir de maneira significativa a ocorrência de ruptura do implante com extravasamento do gel, além de resultar na ocorrência de menores taxas de contratura capsular²⁴.

O silicone não é isento de causar inflamação. A implantação de próteses de elastômero de silicone preenchidas com gel de silicone resulta em uma resposta não uniforme ao implante, com reação granulomatosa de diferentes intensidades ao longo da sua superfície⁴¹. Esse processo inflamatório é resultante do aumento da permeabilidade vascular resultante da interação do silicone da superfície do implante com complexos protéicos do hospedeiro. A intensidade da inflamação parece ser independente do período de implantação da prótese⁴².

1.3 Poliuretano

O poliuretano, material amplamente pesquisado na prática médica, foi descrito inicialmente na década de 50 como substituto ósseo⁴³. É considerado o “polímero ideal” para aplicações biomédicas em função da sua durabilidade, elasticidade, resistência à fadiga mecânica, complacência, biocompatibilidade e propriedade de modificação de espessura e superfície por modificação do balanço hidrofóbico/hidrofílico. Atualmente, o

poliuretano é utilizado para manufatura de bolsas de coleta de sangue, catéteres vasculares e urinários, enxertos vasculares e cardíacos, além de revestimento dos implantes de silicone mamários⁴⁴.

O poliuretano é um polímero constituído de uma cadeia de unidades orgânicas unidas por ligações de uretano. A principal reação de produção de poliuretano utiliza um reagente catalizador associado a substâncias surfactantes. A reação de formação do poliuretano está ilustrada na Figura 2. O uso do surfactante é imprescindível para a confecção da espuma de poliuretano. A porosidade da espuma de poliuretano, bem como as irregularidades da sua superfície, são capazes de controlar a inflamação associada ao implante e à intrusão dos biomateriais⁴⁴.

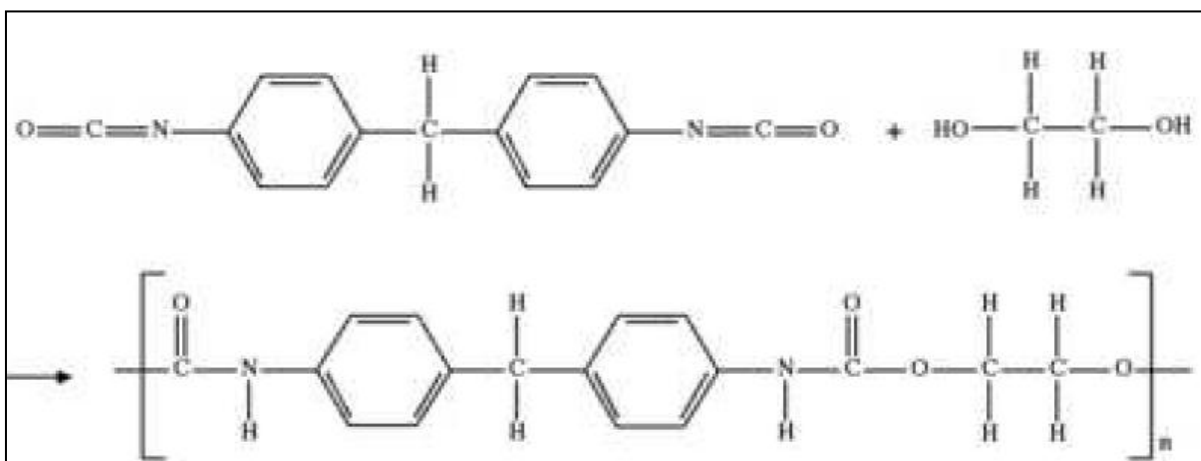


Figura 2 – Reação de produção dos poliuretanos. A cadeia orgânica se liga a um catalizador por ligações de uretano (CO₂)

FONTE: Nogueira, MP. Uso do silicone e poliuretano na uretroplastia dorsal: estudo experimental em coelhos. FMUSP/SP.

O processo de biodegradação do poliuretano resulta na formação de subprodutos conhecidos, como poliéster e toluenodiiisocianato (TDI). Esse último, por sua vez, dissocia-se em MDA (metilenodianilina) e 2,4 e 2,6-tolueno-diisocianato diamina (TDA) ou toluenediamina⁴⁵. Com relação ao risco de câncer por TDA, a *U.S. Food and Drug Administration* (FDA) emitiu relatório, em novembro de 1995, liberando o emprego do poliuretano, após aproximadamente 4 anos de suspensão do seu uso. O FDA afirma que o risco é negligenciável, visto que o volume de TDA nessas próteses é pequeno, e que os níveis de TDA detectados na urina das pacientes com implantes mamários com poliuretano são semelhantes aos níveis encontrados nas pacientes com próteses mamárias sem poliuretano, além de não ser detectado TDA no sangue periférico das pacientes⁴⁶.

Em humanos, a espuma do poliuretano é utilizada desde 1970 na cobertura de próteses mamárias de silicone para reduzir o risco de contraturas mamárias⁴⁷. Em 1997 estimava-se que 10% das próteses mamárias usadas nos EUA seriam cobertas por poliuretano⁴⁸. Talvez o mais avançado progresso nas últimas décadas nos implantes mamários tenha sido a redução nos índices de retração capsular decorrente do revestimento de poliuretano vulcanizado na superfície dos implantes⁴⁷. A literatura^{9-11, 49-52} tem registrado acentuada diminuição dos índices de contratura capsular em pacientes portadores de implantes com cobertura de poliuretano.

Além disso, de forma distinta dos demais implantes, as próteses revestidas com poliuretano apresentam elevada aderência ao tecido mamário e aos tecidos adjacentes e uma intensa resposta inflamatória associada à degradação do poliuretano. Sank e colaboradores (1993)⁵³ sugeriam que a interação do poliuretano com os elementos celulares é mais favorável do que em outros tipos de superfícies, e isso pode contribuir para formação de uma cápsula mais macia. Esses achados podem ser mediados, pelo menos em parte, pela liberação de produtos tóxicos do poliuretano que dificultam a adesão dos fibroblastos e fibras colágenas contratoras *in vivo* através da prolongação da reação inflamatória aguda, secundária ao aumento da morte celular na superfície dos implantes. Em contrapartida, a presença de uma resposta inflamatória aguda prolongada pode predispor à degradação da camada de poliuretano e à liberação de fragmentos de espuma, bem como tornar a explantação da prótese mais dificultada⁵³.

A superfície porosa encontrada nos implantes revestidos de poliuretano promove uma reação de corpo estranho aguda e prolongada⁵⁴. O poliuretano induz uma reação inflamatória tipo corpo estranho homogeneamente distribuída ao redor do implante. A inflamação é mediada por interação antígeno-anticorpo, com migração de macrófagos e células gigantes de corpo estranho (CGCE), que fagocitam ou englobam os fragmentos de poliuretano, formando micropartículas. Essa resposta resulta em degradação da espuma de poliuretano e na liberação de fragmentos de poliuretano. Os fragmentos menores são fagocitados e removidos pelos macrófagos, enquanto as partículas maiores de espuma de poliuretano são englobadas por macrófagos e células gigantes multinucleadas, que são posteriormente substituídas parcialmente por fibroblastos e colágeno⁵². Os macrófagos são capazes de fagocitar partículas muito pequenas (< 5 µm), enquanto partículas maiores (>10 µm) induzem formação de células gigantes multinucleadas de corpo estranho. Nos

tecidos moles com forças mecânicas mínimas, os implantes tendem a ficar íntegros e os macrófagos e as CGCE irão aderir e responder às superfícies do material. Entretanto, a localização bem como a forma e o tamanho do material são fatores que podem influenciar a reação de corpo estranho aos materiais introduzidos no corpo humano⁵⁵.

A ativação dos macrófagos com subsequente liberação de agentes bio-reativos tem sido amplamente estudada em modelos *in vitro* e *in vivo*. A adesão de macrófagos e das CGCE nas superfícies dos materiais produz um micro ambiente entre a membrana celular e a superfície do biomaterial. Num processo denominado por Henson (1971)⁵⁶ como “fagocitose frustrada”, macrófagos e CGCE podem liberar mediadores de degradação como intermediários de oxigênio reativo (radicais livres), enzimas degradativas e ácidos na interface entre a membrana celular e a superfície do biomaterial. As superfícies dos biomateriais são susceptíveis a altas concentrações destes agentes degradantes. A química da superfície do biomaterial irá determinar a susceptibilidade à biodegradação⁵⁵. Essas micropartículas levam ao crescimento lento da fibrose, atrapalhando a contração da cápsula fibrótica ao redor da prótese, levando à maior aderência do implante aos tecidos circunjacentes¹⁹.

1.4 Contração Capsular

Desde a constatação de que os implantes revestidos de poliuretano reduzem significativamente as taxas de contração capsular^{9-13, 16, 18, 20-23, 29, 51, 53, 54, 57-59} a idéia de usar um implante de superfície rugosa (texturizada ou de poliuretano) tem recebido muita atenção^{7, 28, 60, 61}.

A texturização da superfície dos implantes, seja com cobertura de poliuretano ou não, é relacionada à redução da incidência das contrações capsulares^{8, 23, 26, 28, 60, 61}. Dois estudos de meta-análise, conduzidos por Wong e colaboradores (2006)⁶¹ e Barnsley e colaboradores (2006)⁸, revisando ensaios randomizados controlados e comparando implantes de silicone texturizados e lisos, concluíram que a texturização dos implantes reduz a incidência de contração capsular na mamoplastia de aumento subglandular em relação aos implantes de superfície lisa. Contudo, o mecanismo de formação da cápsula fibrosa ainda é controverso^{34,62}. Muitos autores ainda sugerem a utilização dos implantes lisos^{35, 63-68}. Os proponentes do uso de implantes de superfície lisa têm citado taxas comparáveis de contração capsular⁶⁵⁻⁷⁰.

Handel e colaboradores (2006)²³ relataram que os implantes texturizados apresentam leve redução no risco de desenvolvimento de contratura capsular em relação aos implantes lisos, essas não são diferenças estatisticamente significantes. Quando os pacientes são acompanhados por longos períodos de tempo, as diferenças tornam-se menos aparentes²³.

Estudos recentes têm demonstrado uma vantagem em relação ao uso de implantes texturizados em relação aos lisos^{60, 67, 71-76}. Alguns trabalhos não encontraram melhora significativa em termos de redução de formação da cápsula^{24, 67, 68}.

No entanto, não está esclarecido se a texturização realmente reduz a incidência ou retarda o início da contratura capsular⁶¹. Apesar de os dados de estudos a longo prazo^{60, 68, 71, 76} demonstrarem que a vantagem dos implantes texturizados parece manter-se até sete anos de seguimento, a qualidade dos dados apresenta deterioração significativa após um ano de seguimento⁶¹.

O mecanismo fisiopatológico da contratura capsular parece ser multifatorial. O único denominador comum no seu tratamento parece ser o controle do processo inflamatório. A ativação do processo de inflamação e o desenvolvimento da contratura capsular iniciam-se com o processo normal de cicatrização. A inibição do processo inflamatório tem sido o foco de vários estudos^{30, 32, 34, 77, 78}.

A textura da superfície é uma variável crítica na determinação da resposta do tecido mole ao material estranho²⁸. A magnitude da texturização é importante. As irregularidades da superfície pela texturização podem produzir um padrão mais desorganizado de colágeno na cápsula, com uma redução da disposição linear e da espessura do colágeno^{66, 79, 80}. Em 1979, Ginsbach e colaboradores referiram a correlação entre a presença aumentada de fibras de colágeno e a ocorrência de contratura capsular em pacientes⁸¹. O colágeno tem sido demonstrado como sendo o principal componente no processo de fibrose⁷². O método de Picrossirius com luz polarizada tem permitido a quantificação do estado da agregação do colágeno e a descrição da história natural do processo de fibrose em doenças e em alguns modelos experimentais^{72, 82, 83}. Nas fases iniciais de reparo, por estar relacionado à presença de tecido de granulação, o colágeno depositado é o tipo III. Durante o processo de maturação, esse é substituído pelo colágeno tipo I. Segue-se, então, a fibrose⁸⁴.

Uma menor proporção de colágeno tipo III em implantes texturizados foi encontrada em modelo experimental com coelhos, quando comparado aos implantes lisos⁸⁵. O colágeno III está implicado na organização da matriz citoplasmática e do tecido de granulação. É substituído gradualmente pelo colágeno tipo I, estabilizando o processo da cicatrização. A ausência do colágeno do tipo I e o aumento do colágeno tipo III se associam com doenças fibróticas crônicas⁶⁰.

Estudos experimentais para identificar menores taxas de contratura capsular com os implantes texturizados, utilizaram modelos animais com implantes texturizados em localização subcutânea ou submuscular onde é avaliada a histologia das cápsulas formadas. Alguns estudos experimentais encontraram cápsulas mais espessas e endurecidas nos implantes texturizados^{57, 85-87}, enquanto outros demonstraram que a contratura capsular ocorre menos frequentemente com os implantes de superfície texturizadas^{30, 54, 59, 72, 77-80, 88-91}. Gancedo e colaboradores (2008) não encontraram diferenças entre os grupos lisos e texturizados³². A evidência experimental ainda é inconclusiva e contraditória^{8,61}.

Após revisão bibliográfica no PubMed e Scielo, constatou-se que, desde o final da década de 80, não foram encontradas publicações referentes ao estudo comparativo do uso de implantes de poliuretano de última geração com implantes texturizados.

As publicações experimentais mais recentes estão direcionadas ao estudo de intervenções para alterar o desenvolvimento da contratura capsular através de interferência nos mediadores do processo inflamatório, utilizando estudos comparativos entre implantes lisos e texturizados.

1.5 Biomateriais e Processo Inflamatório

A exposição celular a diferentes biomateriais pode levar a efeitos imunotóxicos^{92, 93}. O termo “biocompatibilidade” pode ser definido como a habilidade de determinado material de adaptar-se de forma apropriada ao hospedeiro, por tempo prolongado, em uma situação específica⁹⁴. Sempre que um material é colocado em contato com tecido vivo, há uma reação inflamatória, mediada por células de defesa do organismo, a qual está intimamente relacionada ao fenômeno de reparo^{95, 96}. A extensão e a resolução dessa resposta têm papel importante na determinação do sucesso a longo prazo do material implantado. A interação das células inflamatórias com a superfície dos biomateriais, bem

como as proteínas adsorvidas a essas superfícies, podem modular a liberação de inúmeros mediadores inflamatórios e resultar em uma reação de corpo estranho⁹⁷.

A reação de corpo estranho é caracterizada pelo desenvolvimento de uma cápsula avascular que isola o corpo estranho do tecido circunjacente, sendo benéfica para o organismo. O processo inflamatório e os mecanismos de modulação do mesmo, induzido pelo biomaterial, podem contribuir para o desenvolvimento de complicações relacionadas ao implante, tais como infecção, degradação do implante, trombose, reabsorção óssea e contratura da cápsula fibrosa. As características morfológicas, químicas e elétricas das superfícies do biomaterial podem influenciar a extensão da resposta celular ao implante. Entretanto, outros fatores podem influenciar essa resposta, visto que um material idêntico implantado em espécies diferentes ou em diferentes localizações anatômicas pode induzir graus diferentes de resposta inflamatória⁹⁷.

Um implante adequado para ser utilizado em mamoplastias de aumento precisa apresentar características semelhantes ao tecido mamário fibroglandular, mimetizando suas características de maciez e textura por um longo período de tempo. Essa não é uma condição fácil de ser atendida, pois nenhum material sintético tem essas características. A grande maioria dos implantes mamários segue o conceito de uso de uma superfície de elastômero que contém gel, para dar consistência e volume, e o elastômero para encapsular o gel. Por muitos anos, a melhor performance foi obtida com essa combinação de elastômero de silicone com silicone gel⁹⁴.

Todavia, o primeiro problema clinicamente significativo surgido com esse tipo de implante foi a distorção da mama e dor, devido à ocorrência de cápsula fibrosa excessivamente espessa e firme, denominada fibrose constrictiva ou contratura capsular. Alguns estudos sugerem que não existe uma correlação direta entre fibrose e qualquer achado químico ou toxicológico do silicone ou da sílica presente no elastômero²⁴. Existem evidências de que a fibrose seja relacionada à irritação mecânica e à estimulação celular associada ao micro movimento entre a interface implante-tecido, uma vez que as próteses mamárias de silicone são o maior entre os biomateriais implantáveis no ser humano; e a mama é naturalmente sujeita a movimento significativo⁹⁴. Brohim e colaboradores (1992) sugeriram que a maior fixação da espuma de poliuretano aos tecidos adjacentes, induzida pela maior penetração de tecido cicatricial pelas rugosidades

da espuma, reduziria a fricção, conseqüentemente resultando em cápsulas menos espessas⁷⁹.

A resposta inflamatória é constituída por dois principais componentes, um vascular e outro celular. Muitos tecidos e células estão envolvidos nesse processo, incluindo o fluido tissular e suas proteínas plasmáticas, as células circundantes, os vasos sanguíneos e os componentes celulares e extracelulares do tecido conjuntivo. As células circulantes incluem neutrófilos, monócitos, eosinófilos, linfócitos, basófilos e plaquetas. As células do tecido conjuntivo incluem mastócitos, que estão intimamente ligados aos vasos sanguíneos, fibroblastos, macrófagos locais e linfócitos. Dentre os componentes da matriz extracelular se incluem proteínas estruturais (colágeno e elastina), glicoproteínas de adesão (fibronectina, laminina, colágeno não-fibrilar e tenascina entre outras) e proteoglicanas^{84, 98}.

A inflamação aguda é um processo relativamente curto, com duração de minutos até um ou dois dias. Esse processo ocorre em função do aumento do fluxo sanguíneo, aumento da permeabilidade capilar e aumento da migração dos leucócitos, os quais se acumulam no foco da lesão e são ativados para eliminar ou controlar o agente nocivo^{84,95}. Por outro lado, a inflamação crônica pode persistir por semanas, meses ou anos. Nesse processo, além dos fenômenos exsudativos ocorrem também os proliferativos, envolvendo a proliferação de vasos, fibroblastos e a migração e proliferação de monócitos e linfócitos^{84,98}.

A inflamação crônica representa uma das possíveis evoluções da fase aguda e significa que a mesma falhou na resolução do processo, pois não conseguiu evoluir para a reparação do tecido lesado. O processo inflamatório crônico, pode ser classificado de acordo com a evolução clínica e/ou cronológica e os tipos de células presentes. O granuloma é um tipo de resposta inflamatória crônica, caracterizada pela presença de aglomerados de macrófagos, bem ou mal organizados, no local onde persiste um agente agressor que não foi eliminado pela fase aguda da inflamação. No granuloma, os macrófagos podem estar associados ou não a outros leucócitos mononucleares como linfócitos e plasmócitos, com presença freqüente, mas não obrigatória de células epitelioides e células gigantes multinucleadas⁹⁹.

As reações vasculares e celulares do processo inflamatório são mediadas por fatores químicos derivados de proteínas plasmáticas ou de células⁹⁵. Tais mediadores

agem em conjunto ou em sequência, amplificando a resposta inflamatória e, consequentemente, influenciando a sua evolução. Os mediadores derivados do plasma estão presentes na forma de precursores e devem ser ativados por meio dos fatores de transcrição, como, por exemplo, o fator nuclear kappa β (NF- κ B) e phospho-c-jun (AP-1), e de uma série de clivagens proteolíticas para adquirir suas propriedades biológicas. Os mediadores derivados de células normalmente estão armazenados em grânulos intracelulares que precisam ser secretados ou sintetizados em resposta a um estímulo. As principais fontes de mediadores são as plaquetas, neutrófilos, monócitos/macrófagos e mastócitos. No entanto, algumas células mesenquimais também podem induzir a liberação de alguns mediadores⁹⁵.

A maioria dos mediadores químicos desempenha sua atividade biológica ligando-se, inicialmente, a receptores específicos nas células-alvo. Os mediadores podem atuar em um ou em alguns tipos celulares, ter vários alvos, ou até apresentar efeitos distintos de acordo com os tipos de células e tecidos ou os genes de expressão envolvidos⁸⁴.

Dentre os mediadores químicos mais importantes estão a mieloperoxidase, as aminas vasoativas (histamina e serotonina), proteases plasmáticas (sistema de complemento e sistema de cininas), metabólitos do ácido araquidônico (prostaglandinas e leucotrienos), fatores ativadores plaquetários, citocinas, quimiocinas e reativos intermediários do oxigênio e nitrogênio^{84, 95, 100}.

Acredita-se que o controle molecular da resposta inflamatória seja mediado por citocinas^{101, 102}. Citocinas são proteínas de baixo peso molecular produzidas por vários tipos celulares, principalmente linfócitos, macrófagos ativados e por células do endotélio, epitélio e tecido conjuntivo^{95, 100}. As citocinas podem atuar sobre a mesma célula que as produz (efeito autócrino), afetar células vizinhas (efeito parácrino) ou afetar várias células sistemicamente (efeito endócrino). A IL-1 e o TNF são as duas principais citocinas que participam do processo inflamatório^{101, 102}. Essas citocinas são produzidas principalmente por macrófagos ativados. Os efeitos da IL-1 β e o TNF- α dependem, em parte, da ativação do fator de transcrição NF- κ B^{102, 103}. O fator NF- κ B está presente na maioria das células, permanecendo no seu estado inativo no citoplasma, ligado ao seu inibidor endógeno, o I κ B^{103,104}. Quando a célula é exposta a sinais ativadores, como a ligação do TNF- α aos receptores da superfície celular, a proteína I κ B é fosforilada e degradada. Esse processo libera o complexo NF- κ B, o qual é translocado para o núcleo,

ligando-se a sequências específicas do DNA para ativar a transcrição de diversos genes como a ciclo-oxigenase-2 (COX-2)^{102, 103} e o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF)¹⁰⁵.

A mieloperoxidase (MPO) é uma proteína catiônica com 144 kD de peso molecular, sendo a principal constituinte dos grânulos azurófilos dos neutrófilos⁹⁵. Dessa forma, ela é considerada um marcador de neutrófilos ativados durante a fase aguda da reação inflamatória. A MPO, por meio da reação com peróxido de hidrogênio, forma radicais livres e substâncias oxidantes difusíveis com atividade antimicrobiana. No entanto, também promove dano oxidativo no tecido do hospedeiro nos locais de inflamação^{95,100}.

Quando um implante é introduzido, o organismo reage encapsulando-o, iniciando, assim, um processo de rejeição. Essa resposta imunológica é mediada por citocinas e fatores de crescimento como interleucina do tipo 1 (IL-1), interleucina do tipo 6 (IL-6), TNF- α , fatores de crescimento derivados de plaquetas e fator de crescimento transformador beta do tipo 1 (TGF- β 1). A presença de miofibroblastos na cápsula contraída tem sido reportada à produção de alfa actina de músculo liso (α -SMA), onde as cápsulas mais severamente deformadas apresentam uma maior produção de α -SMA, sugerindo um papel direto dos miofibroblastos ativados no desenvolvimento da contratura. Também tem sido demonstrado que um número maior de miofibroblastos é proporcional à espessura da contratura⁹².

À medida que a agressão tecidual é controlada, fatores de crescimento de fibroblastos, metaloproteinases e fatores angiogênicos são produzidos visando o reparo tecidual. As populações celulares, provavelmente, são controladas pelo equilíbrio entre os efeitos antagônicos dos fatores estimuladores e inibidores do crescimento celular. As duas principais fontes de mediadores como os fatores de crescimento no processo de reparo, são os macrófagos, fibroblastos e plaquetas⁹⁹.

Duas semanas após o início do processo de cicatrização, os fibroblastos do tecido de granulação adquirem uma mudança fenotípica mediada pelo fator de crescimento transformador (TGF), para transformar-se em miofibroblastos que expressarão a actina de músculo liso (SMA). Semelhantemente às células de músculo liso vasculares que contêm altos níveis de actina de músculo liso, os miofibroblastos são capazes de gerar forças contráteis. Os miofibroblastos aceleram o processo de cicatrização através da retração do

tamanho da ferida. Uma vez reparado o tecido, a expressão de actina de músculo liso diminui e os miofibroblastos sofrem apoptose. Estudos demonstram que as cápsulas contraídas de implantes mamários de silicone têm apresentado quantidade aumentada de miofibroblastos quando comparadas às cápsulas sem contratura¹⁰⁶.

Os avanços na biologia molecular permitiram o conhecimento mais aprofundado do processo cicatricial. Na década de 1970, Hepleston e Styles realizaram experimento *in vitro* demonstrando que a sílica causa danos aos macrófagos, que subsequentemente produzem TGF β . Este estimula os fibroblastos a produzirem colágeno¹⁰⁷.

O TGF β é um potente mediador inflamatório fibrótico, angiogênico e imunomodulador. O TGF β estimula a quimiotaxia para fibroblastos e a produção de colágeno, contrapondo-se à colagenase e parece agir sobre os macrófagos, reduzindo a sua ativação. O TGF- β é produzido por quase todas as células, incluindo plaquetas, endotélio⁹⁹, principalmente, macrófagos e monócitos⁹², e está envolvido na fisiopatologia de várias doenças fibróticas (contratura de Dupuytren, fibrose pulmonar, cirrose, glomerulonefrite, esclerodermia e quelóides)¹⁰⁸.

Além disso, o início da fibrose capsular peri-implante de silicone está relacionado a maiores níveis de TGF- β no tecido fibroso das cápsulas quando comparadas ao tecido mamário normal. Estudos experimentais obtiveram a redução da resposta inflamatória, angiogênese e matriz extra-celular através da inibição direta ou indireta do TGF- β . Um inibidor do TGF- β , denominado P144, que bloqueia a união do TGF β 1 com o seu receptor celular, demonstrou potencial antifibrogênico em cirrose e fibrose capsular peri-implantes¹⁰⁸.

Os macrófagos regulam de forma basal a secreção e a ativação do TGF- β 1 latente. Uma vez estimulado, via receptores transmembrana, o TGF- β 1 ativa intermediários de sinais (Smad), modulando a transcrição de importantes genes alvo de proteínas da matriz extracelular, como os procolágenos I e III. Além disso, o TGF- β 1 derivado de macrófagos promove fibrose através da ativação direta das células mesenquimais residentes que se diferenciam em miofibroblastos produtores de colágeno. A célula produtora de TGF- β 1 em um processo inflamatório ou de reparo parece ser fundamental para o estabelecimento da sua função, visto que o TGF- β 1 derivado de macrófagos é pró-fibrótico, enquanto o TGF- β 1 derivado de linfócitos T parecem ter um papel supressor⁹².

É sugerido que os miofibroblastos são a causa da produção excessiva de colágeno e depósito de matriz extracelular, porque eles exercem função de fibroblastos e músculo liso^{34,109}. O miofibroblasto é o mediador chave da fibrose e, quando ativado, atua como a célula primária produtora de colágeno. Essas células podem ser originadas a partir de células mesenquimais locais, células endoteliais e epiteliais, ou derivadas das células tronco da medula óssea, chamadas fibrócitos. Os miofibroblastos são ativados por uma série de mecanismos, incluindo sinais parácrinos derivados de linfócitos e macrófagos, fatores autócrinos secretados pelas próprias células e padrões moleculares associados a patógenos (PAMPS), produzidos por organismos patogênicos que interagem com receptores de reconhecimento padrão (por exemplo, Toll-like receptors) nos fibroblastos. Citocinas (IL-13, IL-21, TGF- β 1), quimiocinas (MCP1, MIP-1 β), fatores angiogênicos (VEGF), fatores de crescimento (PDGF), receptores ativados de proliferador de peroxissome (PPARs), proteínas da fase aguda (SAP), caspases, componentes do sistema renina-angiotensina-aldosterona (ANGII), todos têm sido identificados como reguladores importantes da fibrose e têm sido investigados como potenciais alvos em drogas anti-inflamatórias⁹².

Os fibrócitos derivados da medula óssea devem ser recrutados para o sítio da lesão, existe cada vez mais interesse no entendimento do papel das quimiocinas e proteínas da fase aguda, como a amiloide P sérica (SAP), no desenvolvimento e recrutamento de miofibroblastos. Como os fibrócitos e os miofibroblastos derivados de células endoteliais produzem uma série de fatores que são envolvidos no processo fibrótico, a interrupção do seu desenvolvimento, recrutamento ou ativação poderia prover um meio de tratamento para uma série de doenças fibróticas⁹².

A presença de miofibroblastos na cápsula contraída tem sido identificada pela expressão da proteína α -SMA. Sendo que as cápsulas mais severamente deformadas apresentam uma maior produção de α -SMA, sugerindo um papel direto dos miofibroblastos ativados no desenvolvimento da contratura³².

O desenvolvimento da fibrose é precedido por alterações vasculares. Além da fibroproliferação e deposição de componentes de matriz extracelular, a patogênese de doenças fibróticas são caracterizadas por uma remodelação vascular substancial, que ocorre antes do desenvolvimento de fibrose⁹². O VEGF é um mitógeno específico para células endoteliais vasculares¹¹⁰. Devido à sua potente propriedade angiogênica e

mitogênica, o VEGF participa de processos biológicos cruciais, incluindo o reparo tissular^{111,112}.

O VEGF é um potente vasodilatador e funciona como regulador da permeabilidade vascular, considerada importante para o início da angiogênese. Estudos têm mostrado que a sobrevivência das células endoteliais nos vasos recém-formados é dependente do VEGF¹¹¹⁻¹¹⁴. Níveis elevados de VEGF têm sido detectados durante a fase de cicatrização ou reparo. Estão presentes em tecidos com células endoteliais inativas, confirmando que a ação desse fator não está limitada à indução do crescimento. Recentemente, tem sido reportado que o VEGF desempenha um papel importante no crescimento celular endotelial, na prevenção da apoptose de células endoteliais e na formação vascular colateral¹¹¹⁻¹¹⁴. É sabido que durante a resposta pró-inflamatória, o aumento na expressão de VEGF ocorre via COX-2, promovendo a angiogênese no local agredido^{105,115}.

O mecanismo de desenvolvimento e o controle da contratura capsular e os mecanismos inflamatórios ainda são controversos. Em função da escassez de estudos experimentais utilizando implantes de silicone com superfície de poliuretano, tornam-se necessárias novas investigações experimentais e clínicas com esse tipo de implante.

O presente trabalho tem como objetivo o estudo comparativo da reação inflamatória e de seus mediadores associados aos implantes mamários de silicone revestidos de poliuretano e de superfície texturizada, utilizando mini-próteses de 2 ml implantadas no tecido subcutâneo de ratas Wistar, para avaliação dos mecanismos inflamatórios e de reparo após 30 e 90 dias da implantação das próteses.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Comparar as alterações morfológicas e moleculares induzidas pelo implante de próteses de silicone de superfície texturizada e revestidas com poliuretano no tecido subcutâneo de ratas.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliação histológica do infiltrado de células inflamatórias, vascularização, espessura do tecido e disposição das fibras colágenas presentes no tecido conjuntivo neoformado, após 30 e 90 dias da implantação das próteses de silicone com superfície texturizada e de poliuretano, através da técnica de Hematoxilina-Eosina, Masson e Picrossírus.
- Quantificação relativa da expressão das proteínas mieloperoxidase (MPO), actina de músculo liso do tipo alfa (α -SMA), fator de crescimento transformador do tipo beta (TGF- β) e fator de crescimento endotelial e vascular (VEGF) no tecido conjuntivo neoformado, através da técnica de imunohistoquímica, 30 e 90 dias após a implantação das próteses de silicone com superfície texturizada e de poliuretano.

3.MÉTODO

3.1 AMOSTRA

Foram utilizadas no modelo experimental 36 ratas (*Rattus norvegicus albinus*) da linhagem Wistar, fêmeas.

Os animais sofreram intervenções em duas terças-feiras consecutivas, sendo 18 exemplares em cada dia, no período das 08 horas e 00 minutos às 12h00 minutos. Para tal será usado como estrutura física o Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental (TOCE).

Os animais foram numerados de 1 a 36, aleatoriamente, por sorteio simples, e distribuídos em 2 grupos e quatro subgrupos a saber:

Grupo I PST (n=18)

18 animais com inclusão de mini-implante de silicone com superfície texturizada com volume de 2,0 cm³.

Subgrupo PST30 (n=6)

06 animais com inclusão mini-implante de silicone com superfície texturizada com volume de 2,0 submetidos à eutanásia no trigésimo dia pós-operatório.

Subgrupo PST90 (n=12)

12 animais com inclusão de mini-implante de silicone com superfície texturizada com volume de 2,0, submetidos à eutanásia no nonagésimo dia pós-operatório.

Grupo II PSP (n=18):

18 animais com inclusão de mini-implante de silicone revestidas de poliuretano com volume de 2,0 cm³.

Subgrupo PSP30 (n=6)

06 animais com inclusão mini-implante de silicone revestidas com superfície de poliuretano com volume de 2,0 submetidos à eutanásia no trigésimo dia pós-operatório.

Subgrupo PST90 (n=12)

12 animais com inclusão de mini-implante de silicone revestidas com superfície de poliuretano com volume de 2,0 submetidos à eutanásia no nonagésimo dia pós-operatório.

3.2 Implantes

Os mini-implantes utilizados serão constituídos por:

18 unidades de silicone gel, revestidos com espuma de poliuretano, com volume de 2 ml, com 2 cm de diâmetro por 1 cm de altura, de forma arredondada, sendo uma das superfícies plana e a outra convexa; e 18 unidades de silicone gel de superfície texturizada, com volume de 2 ml, com 2 cm de diâmetro por 1 cm de altura, de forma arredondada, sendo uma das superfícies plana e a outra convexa. (Fig. 3)

Esses implantes foram fornecidos pela SILIMED[®] ¹, empresa brasileira fabricante de implantes mamários. Os implantes foram acondicionados separadamente e esterilizados pela própria SILIMED[®], em óxido de etileno. (Fig.4)

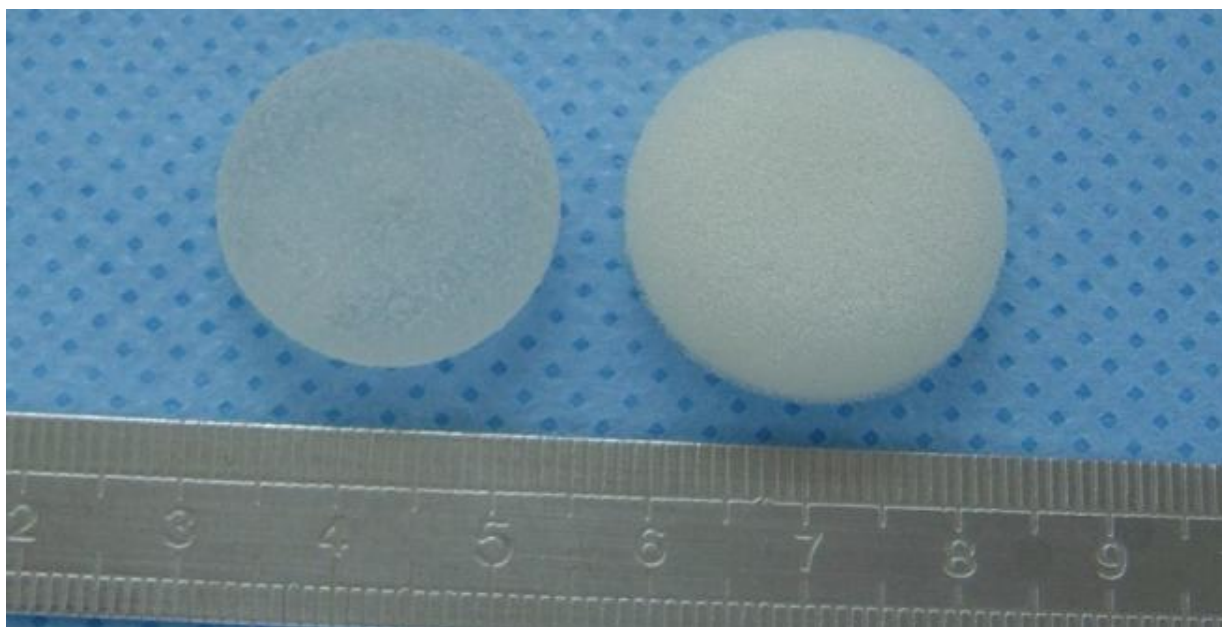


Figura 3 Esquerda: mini-implante texturizado - Direita: mini-implante revestido de poliuretano

FONTE: Vilberto José Vieira (Autor)

⁽¹⁾ SILIMED[®] – Silicone e Instrumental Médico-Cirúrgico e Hospital Ltda. Rio de Janeiro – RJ.



Figura 4 Esquerda: mini-implante texturizado - Direita: mini-implante revestido de poliuretano

FONTE: Vilberto José Vieira (Autor)

3.3 Procedimento Anestésico

Para a anestesia geral, foi adotado o protocolo do laboratório, com acompanhamento de profissional habilitado (médico veterinário). Foi realizada injeção de solução de cloridrato de ketamina (Ketalar, Parke Davis, Belgica) (25mg/Kg) e cloridrato de xilazina 2% (Ronpun, Bayer, Alemanha) (5mg/Kg) na proporção de 2:1, via intramuscular, na face interna da pata traseira direita. Os animais permaneceram sob respiração espontânea durante todo o tempo operatório e em nenhum momento do ensaio foi usado antibiótico.

Depois de constatada a anestesia geral (ausência de reação motora e do reflexo córneo-palpebral), utilizou-se da prancha de madeira (30cm x 35cm) para cirurgia de pequenos animais. Foram colocados em decúbito ventral horizontal com as patas presas por fita adesiva. Feita epilação manual e anti-sepsia da região dorsal com solução de iodopovidona. Em seguida, colocação de campo fenestrado e início da inserção dos implantes. O desenvolvimento do trabalho foi em condições estéreis tal qual é a realidade cirúrgica diária.

3.4 Procedimento Operatório

Após atingirem o plano anestésico, os animais foram posicionados em decúbito ventral, em placas de madeira de 30 x 35 cm, e fixados com fitas adesivas nas patas dianteiras (*membrum thoracicum*) e traseiras (*membrum pelvinum*). (Fig 5)



Figura 5 Fixação em placa de madeira
FONTE: Vilberto José Vieira (Autor)

Após anti-sepsia, usando técnica asséptica, a diérese foi realizada com bisturi frio e complementada com tesoura de METZENBAUM até um comprimento de 2,5 cm no sentido podo - cefálico sobre a região da coluna vertebral, 2,5 cm caudal à escapula, centrado na linha média. (Fig. 6 e 7). A incisão incluiu o panículo carnoso, que permitiu a criação de uma loja subcutânea.



Figura 6 Diérese com bisturi - FONTE: Vilberto José Vieira (Autor)

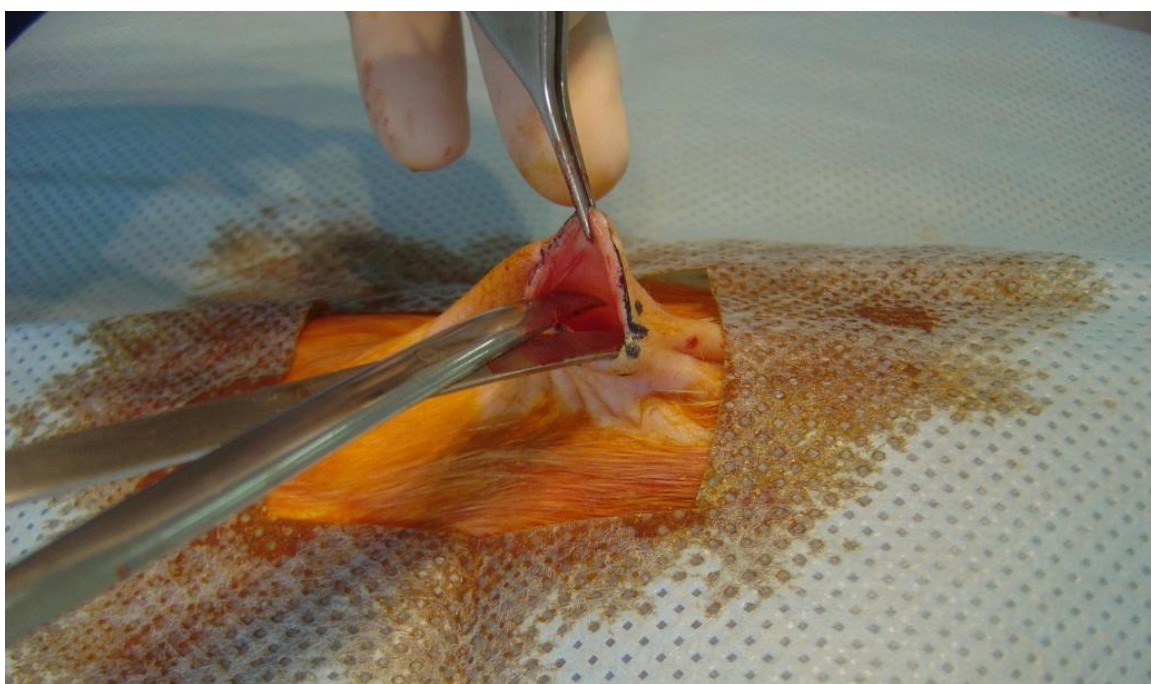


Figura 7 Diérese com tesoura
FONTE: Vilberto José Vieira (Autor)

Posteriormente, foi criada uma cavidade no subcutâneo com aproximadamente 2,5 cm de diâmetro, onde foi inserido o implante conforme os grupos de animais referidos anteriormente. Foi realizada síntese com fio Mononylonon® 5-0. (Fig. 8, 9, 10, 11, 12, 13).

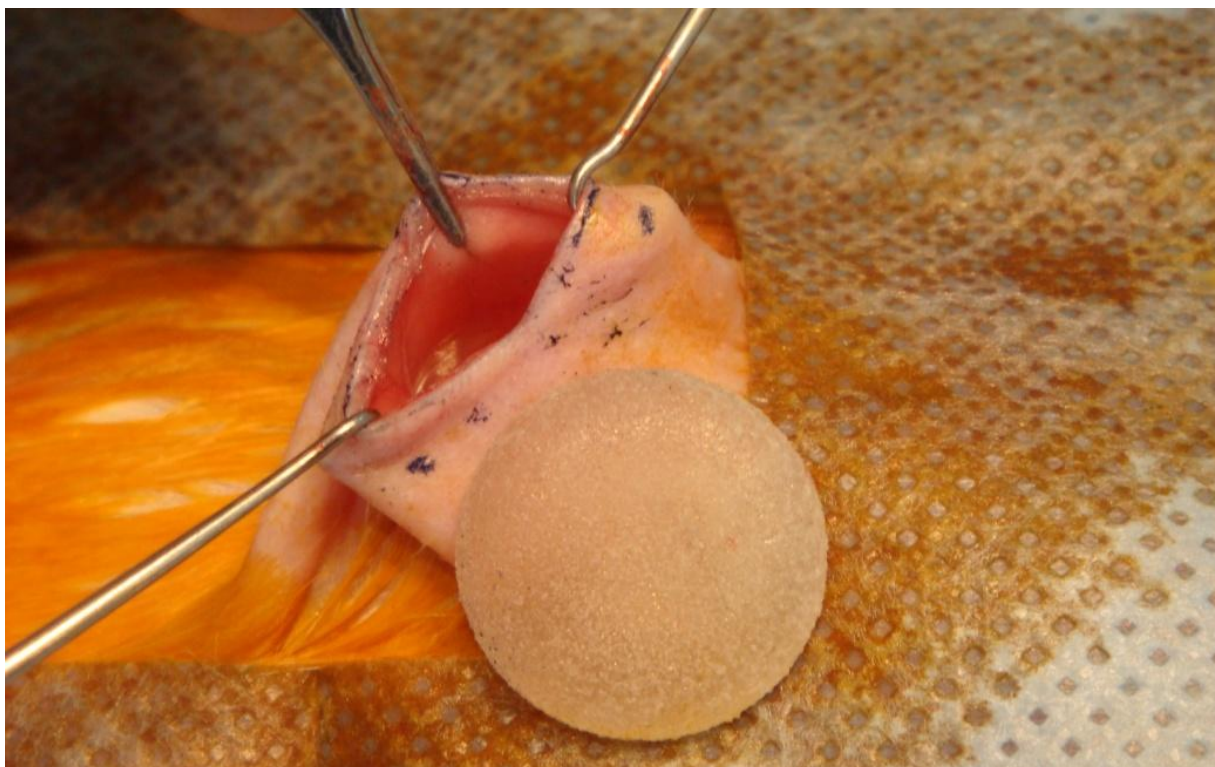


Figura 8 Inserção do implante
 FONTE: Vilberto José Vieira (Autor)

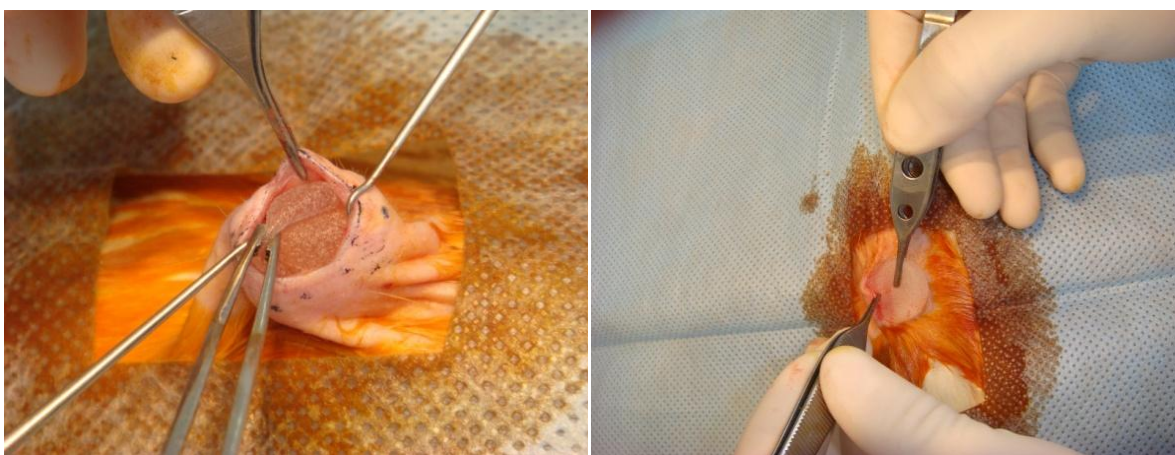


Figura 9 e 10 Inserção do implante
 FONTE: Vilberto José Vieira (Autor)



Figura 11 e 12 Implante na loja e sutura com fio Mononylon®
 FONTE: Vilberto José Vieira (Autor)



Figura 13 Aspecto final
 FONTE: Vilberto José Vieira (Autor)

3.5 Pós-operatório e Seguimento

Após a recuperação anestésica, os animais permaneceram no Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental (TOCE), mantidos em temperatura ambiente, fluxo de ar contínuo, livre de barulho, estresse e obedecendo aos ciclos dia e noite naturais. Foram colocados em caixas plásticas de polipropileno numeradas, dispostas em prateleiras com igual distância da fonte luminosa, um animal por gaiola, com ração e água *ad libitum*. Como analgesia pós-operatória foi usado opiáceo diluído na água, e a alimentação do tipo ração (Nuvilab Cr-1®²) que é própria para alimentação de pequenos roedores.

O protocolo de acompanhamento do pós-operatório foi feito diariamente no primeiro mês e a cada três dias nos meses subsequentes, procurando-se possíveis perdas e intercorrências (apêndice A). O tempo de seguimento do estudo foi de 30 dias nos subgrupos T30, P30 e 90 dias nos subgrupos T90 e P90.

3.6 Eutanásia e Remoção da Peça Cirúrgica em Monobloco

Após o tempo de seguimento, os animais foram submetidos a eutanásia com injeção de solução de cloridrato de ketamina (50mg/Kg) e cloridrato de xilazina 2% (10mg/KG) via intramuscular, na face interna da pata traseira direita seguida de injeção de cloreto de potássio 19,1% 2 ml intra-cardíaco, em conformidade com a Resolução 714 do Conselho Federal de Medicina Veterinária em 30 dias nos subgrupos T30 e P30, em 90 dias nos subgrupos T90 e P90.

Foi feita incisão em bloco com bisturi frio, lâmina número 15, de toda a região peri-implante com 2 cm de margem de tecido, incluindo o implante no centro. (Fig.14 e 15)

² Nuvital 2005 ® - Colombo - PR

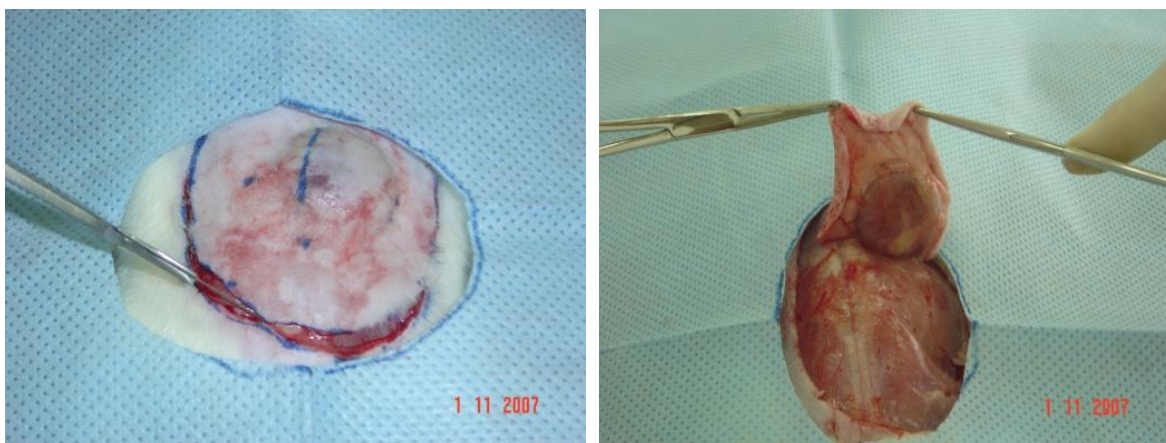


Figura 14 e 15 Incisão em bloco com 2 cm de margem de tecido peri-implante
 FONTE: Vilberto José Vieira (Autor)

As peças retiradas foram fixadas em formol a 10%, em frasco com volume equivalente a três vezes o volume das peças, com os frascos devidamente identificados e individualizados.

3.7 Processamento histológico das amostras

As peças cirúrgicas contendo toda a região peri-implante com 2 cm de margem de tecido, incluindo o implante foram imediatamente fixadas em paraformaldeído (Synth, Diadema, SP, Brasil) a 4% em tampão fosfato (PBS, Laborclin, São José dos Pinhais, PR, Brasil) e mantidas nesta solução a temperatura ambiente de 24-48h. Após completa fixação dos tecidos, as amostras foram seccionadas na região do meridiano central (Fig. 16) e submetidos à desidratação em álcool 70° durante, no mínimo duas horas, seguido de 3 passagens de duas horas cada uma em álcool 96°, e 3 passagens de 2 horas cada uma em álcool 100° (Synth). Após desidratação os tecidos foram imersos em 3 banhos, de 30 minutos cada, em xilol (Synth) e dois banhos de parafina histológica (EasyPath®, Erviegas, São Paulo, SP, Brasil) fundida, a uma temperatura de aproximadamente 60°C, por no mínimo uma hora cada, e finalmente emblocados em parafina com as superfícies de corte voltadas para baixo. Os cortes histológicos, com 3-5 µm de espessura, obtidos dos espécimes fixados e inclusos em parafina, foram obtidos utilizando um micrótomo rotativo manual e montados sobre lâminas de vidro. Após montagem dos cortes sobre as lâminas, as mesmas foram mantidas em estufa com temperatura controlada (50-60°C), durante no mínimo duas horas, ou até completa liquefação da parafina ao redor do corte.

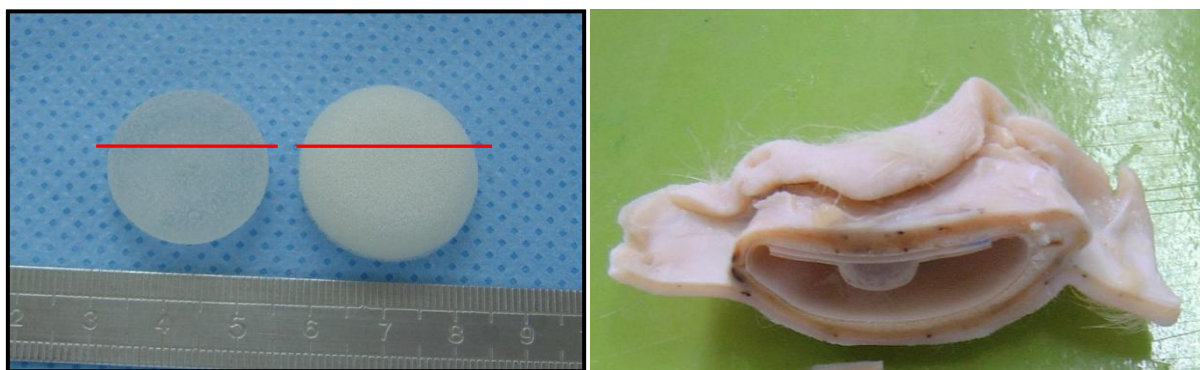


Figura 16 Corte no meridiano das peças cirúrgicas
 FONTE: Vilberto José Vieira (Autor)

(HE), tricrômio de Masson e Picrossirius. Os cortes foram desparafinados em xilol e re-hidratados por passagens sucessivas em etanol em concentrações decrescentes (etanol absoluto, etanol 90 %, 80 % e 70 %), e lavados em água corrente. Para coloração de HE as lâminas foram imersas em solução de hematoxilina de Harris (Merck, Darmstadt, Germany), durante 5 minutos. Posteriormente foram lavados em água corrente durante 10 minutos e diferenciados em solução alcoólica de HCl (Synth) a 1% (1 ml de HCl em 99 ml de álcool etílico 70%). Depois de nova lavagem em água destilada, foram corados em solução de eosina (Merck), novamente lavados e desidratados por passagens rápidas em banhos de álcool etílico 70%, 95%, e 100%, sucessivamente, seguido de dois banhos de xilol, e fixação das lâminas sobre os cortes teciduais com uma gota (200 µL) de meio de montagem permanente (Entellan, Merck, São Paulo/SP, Brasil). Para realização da coloração tricrômica de Masson, depois de lavadas em água (conforme descrito previamente), as lâminas foram imersas em solução de Bouin aquecida (60-64°C), durante 60 minutos, e lavadas em água corrente até completa remoção do corante. As lâminas foram cobertas com solução de Hematoxilina de Weigert, durante 5 minutos, lavadas em água destilada. Posteriormente foram imersas em solução tricrômica (EasyPath, Erviegas, São Paulo/SP, Brasil), durante 15 minutos, seguida de lavagem em água corrente, imersão rápida em ácido acético 0,5%, novamente lavadas, desidratadas em álcool, clarificadas em xilol e cobertas com lâmina e meio de montagem permanente (Merck).

3.7.1 Análise histológica

A avaliação da quantidade de células inflamatórias (polimorfonuclear ou monomorfonuclear) e de vasos (vascularização) presentes no tecido conjuntivo neoformado foi realizada em 6-12 campos de 200X correspondentes a borda anterior e borda posterior da cápsula, dependendo da espessura da mesma. Os dados foram classificados em ausente (0), discreto (1), moderado (2) e acentuado (3), de acordo com a intensidade em que foram encontrados, e transformados em variáveis quantitativas através da atribuição de índice aos achados histológicos. Foram utilizados os seguintes parâmetros: (0) 0-25 células por campo ou sem vascularização; (1) 26-150 células inflamatórias por campo ou baixa densidade vascular; (2) 151-300 células inflamatórias por campo ou densidade vascular moderada; e (3) mais que 301 células inflamatórias por campo ou alta densidade vascular.

A espessura total do tecido pericapsular e a espessura das camadas de colágeno e não colagenosas (tecido conjuntivo neoformado) foram determinadas com uma média de oito medidas obtidas em toda a extensão das lâminas de cada animal. Oito imagens de cada cápsula corada (8 imagens por animal) foram obtidas utilizando uma câmera digital Sight DS-5M-L1 (Nikon Melville, NY, USA) conectada a uma microscópio óptico de luz branca (Eclipse 50i; Nikon, Melville, NY, EUA) com magnificação de 400x, e programa de captura de imagem (J Image 1.36B - National Institutes of Health, Maryland, EUA) com dispositivo para inserção de escala de medida. A espessura do tecido conjuntivo neoformado foi avaliada nas imagens obtidas considerando como critério de delimitação da cápsula, o núcleo da primeira célula que aparece sobre a região que foi ocupada pela prótese e o último núcleo presente no corte histológico após o tecido conjuntivo neoformado (adjacente a camada muscular da pele), sendo o resultado expresso em micrômetros (μm). A espessura da capsula foi mensurada na região de maior espessura de cada campo e os resultados foram expressos com média \pm desvio padrão.

O uso do método Picrossirius com luz polarizada permitiu distinguir áreas ricas em colágeno e áreas sem colágeno no tecido conjuntivo neoformado pericapsular. Para quantificação das fibras colágenas, foram capturadas imagens das lâminas coradas com Picrossirius (microscópio com luz polarizada) e *threshold* de densidade óptica que melhor discriminava para coloração das fibras de colágeno obtidas pelo programa de análise de imagem ImageJ 1.36b (National Institutes of Health, Bethesda, MD, EUA).

Foram utilizadas as ferramentas de *threshold color* e *measure* deste programa, que permite delimitar padrões, através da seleção de *pixels* representativos do colágeno presente nas imagens, sendo o resultado expresso em densidade óptica. Os dados representam o valor médio obtido pela análise das imagens das cápsulas ao redor dos implantes.

3.7.2 Análise imunohistoquímica

A expressão imunohistoquímica foi realizada utilizando anticorpos de coelho anti-TGF- β (1: 100, Abcam Inc., Cambridge, MA, USA), anticorpos de coelho anti-mieloperoxidase (1:300, DAKO, Carpinteria, CA, USA), anticorpos de camundongo anti- α -SMA (1:200, DAKO, Carpinteria., CA, USA), e anticorpo de camundongo anti-VEGF (1:500, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA). Após arrefecimento da peroxidase endógena com peróxido de hidrogênio 1,5% em metanol (v/v) por 20 minutos, o restabelecimento da alta temperatura do antígeno foi realizado por imersão das lâminas em de água entre 95 a 98°C contendo 10 mmol / L de tampão citrato trissódico , pH 6,0, por 45 min. As lâminas foram processadas utilizando o reagente Vectastain Elite ABC (Vector Laboratories, Burlingame, CA), de acordo com as instruções do fabricante. Após a instilação da biotina do anticorpo secundário apropriado, as seções foram instiladas com 3,3-diaminobenzidina (Dako CYTOMATION, Glostrup, Dinamarca) em solução de cromógeno e contra-corados com hematoxilina de Harris. Testes de controle negativo foram incluídos para omissão do anticorpo primário, bem como a substituição do anticorpo primário por meio de diluições equivalentes de IgG sérica de coelho não imune, utilizando o mesmo protocolo de coloração, e eram desprovidas de imunorreação produto específico. A imunohistoquímica foi avaliada através do NIH ImageJ programa de imagem 1.36B (NIH, Bethesda, MD, E.U.A.) como descrito anteriormente. A intensidade de *pixels* total foi determinada por ferramentas de *threshold color* plugging do programa e os dados foram expressos em densidade óptica. Para a análise quantitativa de miofibroblastos, os músculos dos vasos sanguíneos de coloração marrom foram identificados e excluídos da expressão da população de miofibroblastos apresentados na camada capsular. Os dados representam o valor médio obtido pela análise das imagens da cápsula periprotética.

3.7.3 Análise estatística

Os dados foram expressos como a média \pm erro padrão da média (e.p.m.). A avaliação estatística dos resultados foi realizada através da análise de variância (ANOVA) de duas vias. Posteriormente, os grupos foram comparados entre si empregando-se o teste *post-hoc* de Newman-Keuls. As determinações da quantidade de células inflamatórias e de vasos foram avaliadas utilizando o teste para medidas não paramétricas Kruskal-Wallis, seguido por teste de DUNN. A probabilidade aceita como indicativo da existência de diferença estatisticamente significativa foi $P < 0,05$. Todos os testes foram realizados utilizando o programa Statistica (StatSoft Inc., Tulsa, OK).

4. RESULTADOS

Dois animais foram a óbito (PST 4 e PST 12) no início da pesquisa (segundo dia pós-operatório) e foram substituídos por outros de mesmas características, com correção do tempo para a eutanásia. Foram submetidos necropsia, não foi encontrada nenhuma anormalidade, concluímos terem evoluído a óbito por causas naturais.

Dois animais dos grupos de 30 dias apresentaram deiscência da ferida operatória e foram excluídos do estudo (PSP 7 e PST 12). Sendo então considerado $n=5$ de cada grupo de 30 dias, PSP e PST, para análise dos resultados.

Dois animais dos grupos de 90 dias apresentaram deiscência da ferida operatória e foram excluídos do estudo (PSP 18 e PST 22). Sendo então considerado $n=11$ de cada grupo de 90 dias, PSP e PST, para análise dos resultados.

A análise histológica do tecido conjuntivo neoformado ao redor dos implantes demonstrou diferenças significativas quanto à espessura total das cápsulas dos dois tipos de prótese em ambos os períodos analisados (Fig. 17 A). As cápsulas ao redor dos implantes de silicone revestidos de poliuretano foram significativamente mais espessas quando comparadas aos implante de silicone de superfície texturizada nos períodos de 30 dias ($P = 0,0002$) e 90 dias ($P < 0,0001$) (Fig. 17 A, B). A camada de colágeno foi mais fina nos implantes revestidos de poliuretano, quando comparada com as próteses de silicone de superfície texturizada, (Fig. 18 A, B), 30 ($P = 0,0023$) e 90 dias ($P = 0,0257$) após a cirurgia. Por outro lado, o aumento da espessura total da cápsula ocorreu devido à maior espessura da camada não colagenosa dos implantes revestidos de poliuretano. Além disso, a camada periprostética de colágeno nos implantes de superfície texturizadas parece ser mais contínua e paralelamente alinhadas do que nos implantes revestidos em poliuretano (Fig. 18 A).

Também existem diferenças qualitativas entre as cápsulas formadas em torno dos dois tipos de próteses de silicone. A camada adjacente ao implante de silicone revestido por poliuretano foi mais celular e irregular do que a camada ao redor do implante de silicone de superfície texturizada (Fig. 17 A). Além disso, as cápsulas formadas ao redor dos implantes revestidos de poliuretano demonstraram aumento na neovascularização, principalmente em torno dos cristais de poliuretano liberados no tecido adjacente (Fig. 19).

Por meio de coloração histológica, foi possível demonstrar que as cápsulas periprotéticas ao redor dos implantes de superfície texturizada apresentaram menor recrutamento de células inflamatórias ($P = 0,0085$) (Fig. 19 e 20 A) e neovascularização ($P = 0,036$) (Fig. 19 e 20 B), quando comparados com os implantes revestidos de poliuretano, 30 dias e 90 dias após a cirurgia. Além disso, observamos um aumento significativo na expressão de mieloperoxidase, um marcador de polimorfonucleares, nas cápsulas ao redor de implantes revestidos de poliuretano, quando comparado com próteses texturizadas ($P \leq 0,0293$) (Fig. 20 C).

A análise imunohistoquímica revelou níveis aumentados de TGF- β nas cápsulas em torno dos implantes de silicone revestidos poliuretano ($P = 0,0352$) quando comparado com os implantes de superfície texturizada (Fig. 21).

Como mostra a Figura 22, a intensidade da expressão de α -SMA da cápsula ao redor dos implantes revestidos de poliuretano foi mais pronunciada do que a dos implantes de silicone superfície texturizada 30 dias após a cirurgia ($P = 0,0213$). No entanto, não observamos qualquer diferença na expressão de α -SMA quando comparados os implantes revestidos de poliuretano e texturizados, após 90 dias ($P = 0,4418$) (Fig. 22B).

A imunohistoquímica revelou uma intensa expressão de VEGF nas cápsulas dos implantes revestidos de poliuretano, quando comparados com os implantes texturizados, tanto 30 dias ($P = 0,0021$) como 90 dias ($P = 0,0380$) após a cirurgia (Fig. 23 B). O padrão da coloração imunohistoquímica do VEGF demonstrou uma expressão intensa nas células que circundam os cristais de poliuretano, como ilustrado na inserção da Figura 23 A.

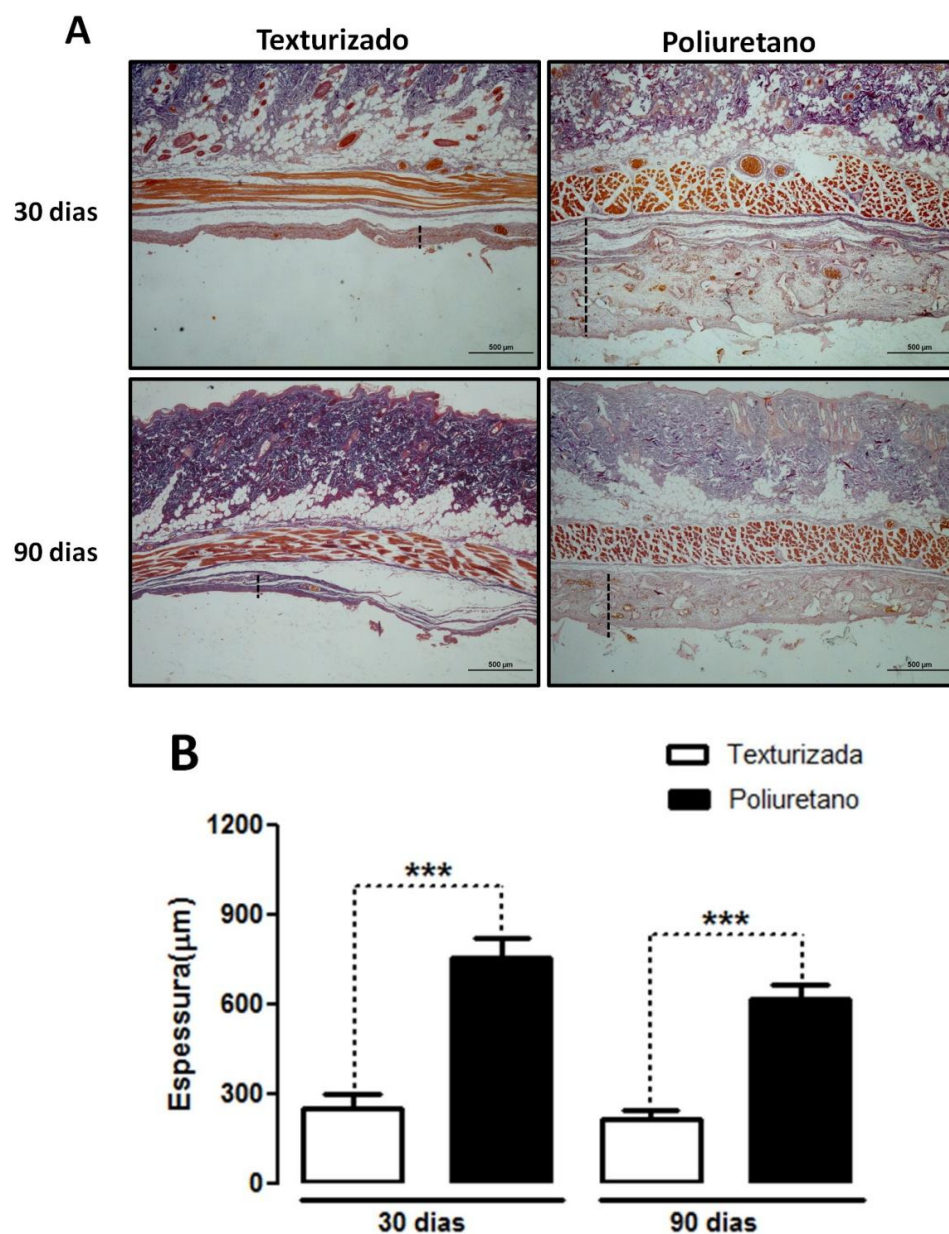


Figura 17 – Espessura periprostética observada sob microscopia óptica convencional. (A) Imagens histológicas representativas da coloração de trichromo Masson do tecido capsular após implantação de mini-próteses de superfície texturizadas ou com cobertura de poliuretano com ênfase na espessura da cápsula. Barra de escala = 500 μm . (B) Representação gráfica da espessura média do tecido pericapsular. A espessura da cápsula (μm) foi medida na porção maior de cada campo randomizado (8 imagens por animal) e os resultados foram expressos como média \pm E.P.M. (n=3-11). *** $P < 0.001$ (ANOVA and Newman Keuls test).

FONTE: Vilberto José Vieira (Autor) e Cláudia Pinto Figueiredo

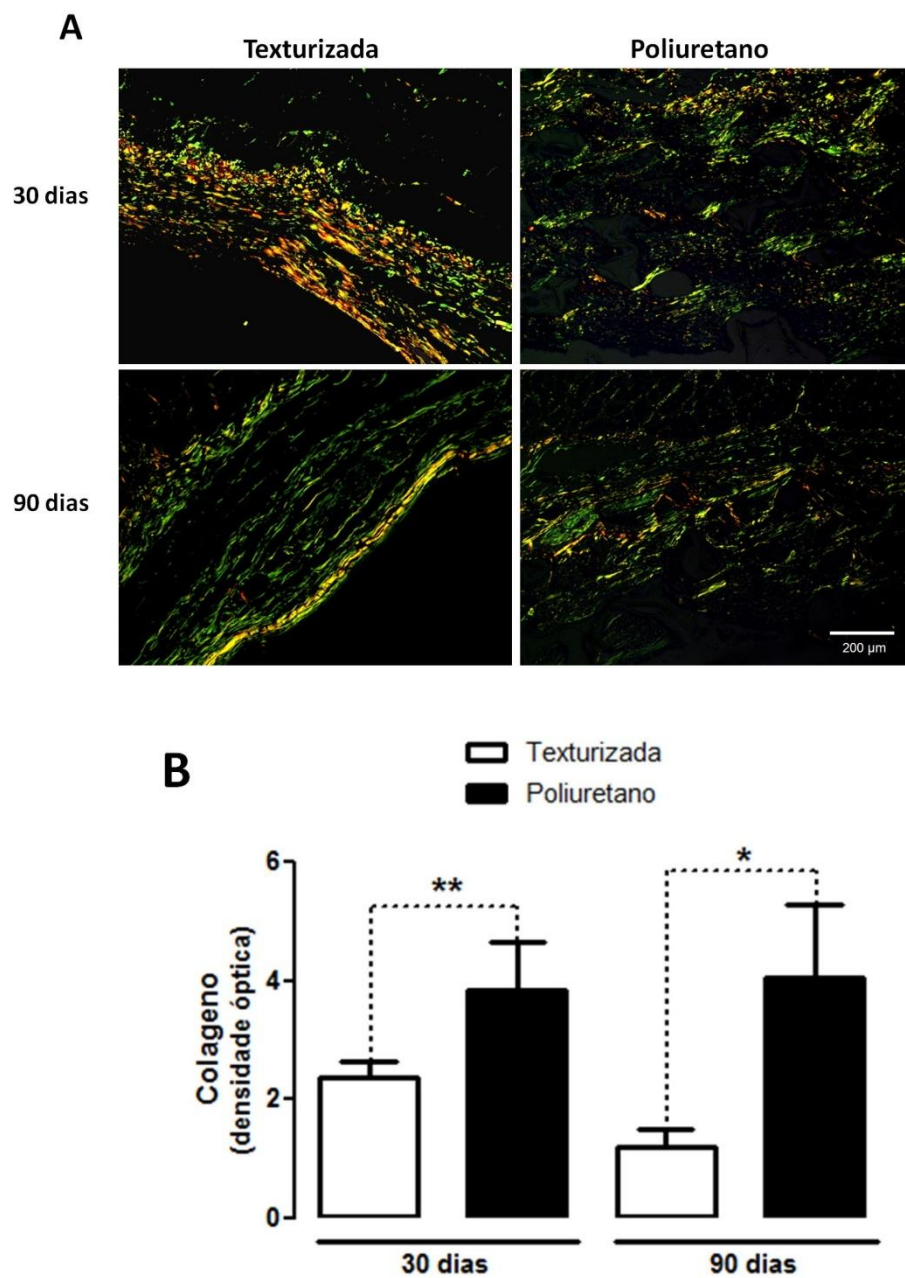


Figura18 – Tecido periprostético observado sob microscopia óptica , utilizando luz polarizada. (A) Cápsula demonstrando fibras colágenas como estruturas birrefringentes, que brilham contra fundo negro quando examinadas sob luz polarizada. Barra de escala = 200 μ m. **(B)** Representação gráfica da porcentagem de colágeno na espessura total da cápsula. A densidade das fibras de colágeno foi determinada através de programa de imagens, e os dados expressos como densidade óptica (D.O.). Os dados representam o valor médio obtido através da análise das imagens da cápsula periprotética e os resultados expressos como média \pm E.P.M. (n=3-11). * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ (ANOVA and Newman Keuls test).

FONTE: Vilberto José Vieira (Autor) e Cláudia Pinto Figueiredo

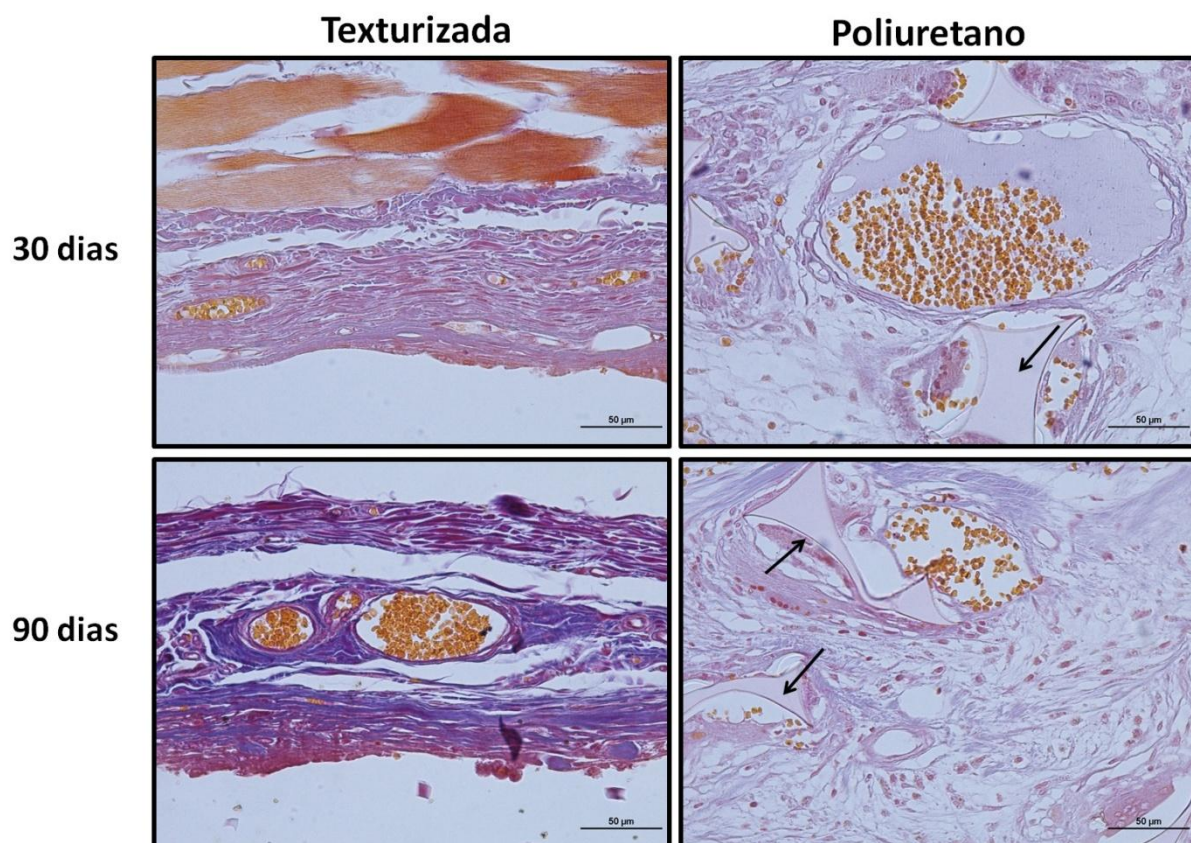


Figura 19 – Morfologia do tecido periprostética observado sob microscopia óptica convencional.

Imagens histológicas representativas da coloração de trichromo de Masson do tecido capsular após implantação de mini-próteses revestidas de poliuretano ou texturizadas com ênfase aos vasos sanguíneos.

As setas indica cristais de poliuretano. Barra de Escala = 50 µm.

FONTE: Vilberto José Vieira (Autor) e Cláudia Pinto Figueiredo

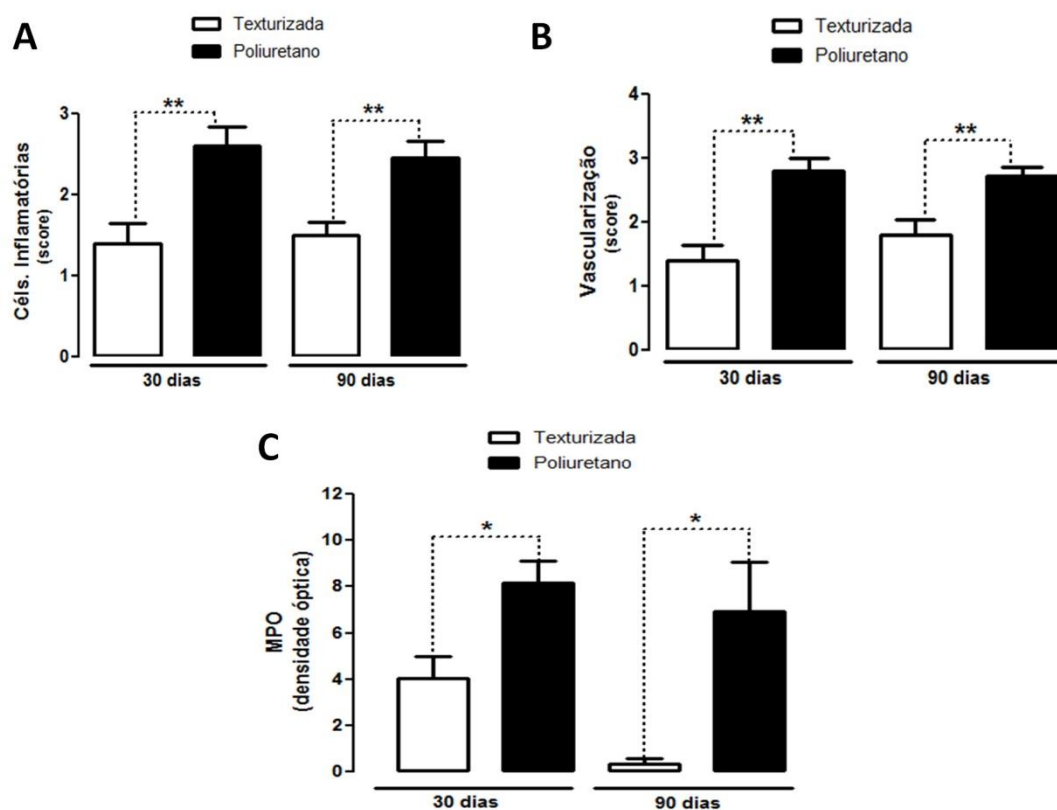


Figura 20 – Vascularização e células inflamatórias do tecido pericapsular. As alterações histológicas em cada amostra foram analisadas com coloração de hematoxilina-eosina de cortes de tecido, que foram graduados de 0 a 3. Representação gráfica dos escores das células inflamatórias (A) e vascularização (B) no tecido capsular. (C) Representação gráfica imunohistoquímica da mieloperoxidase, um marcador para polimorfonucleares, nas cápsulas ao redor das miniprótese revestidas de poliuretano e texturizadas. Os resultados foram expressos como média \pm E.P.M. (n=3-11). ** $P < 0.01$ (Kruskal-Wallis seguido de Dunn's test ou ANOVA e Newman Keuls test).

FONTE: Vilberto José Vieira (Autor) e Cláudia Pinto Figueiredo

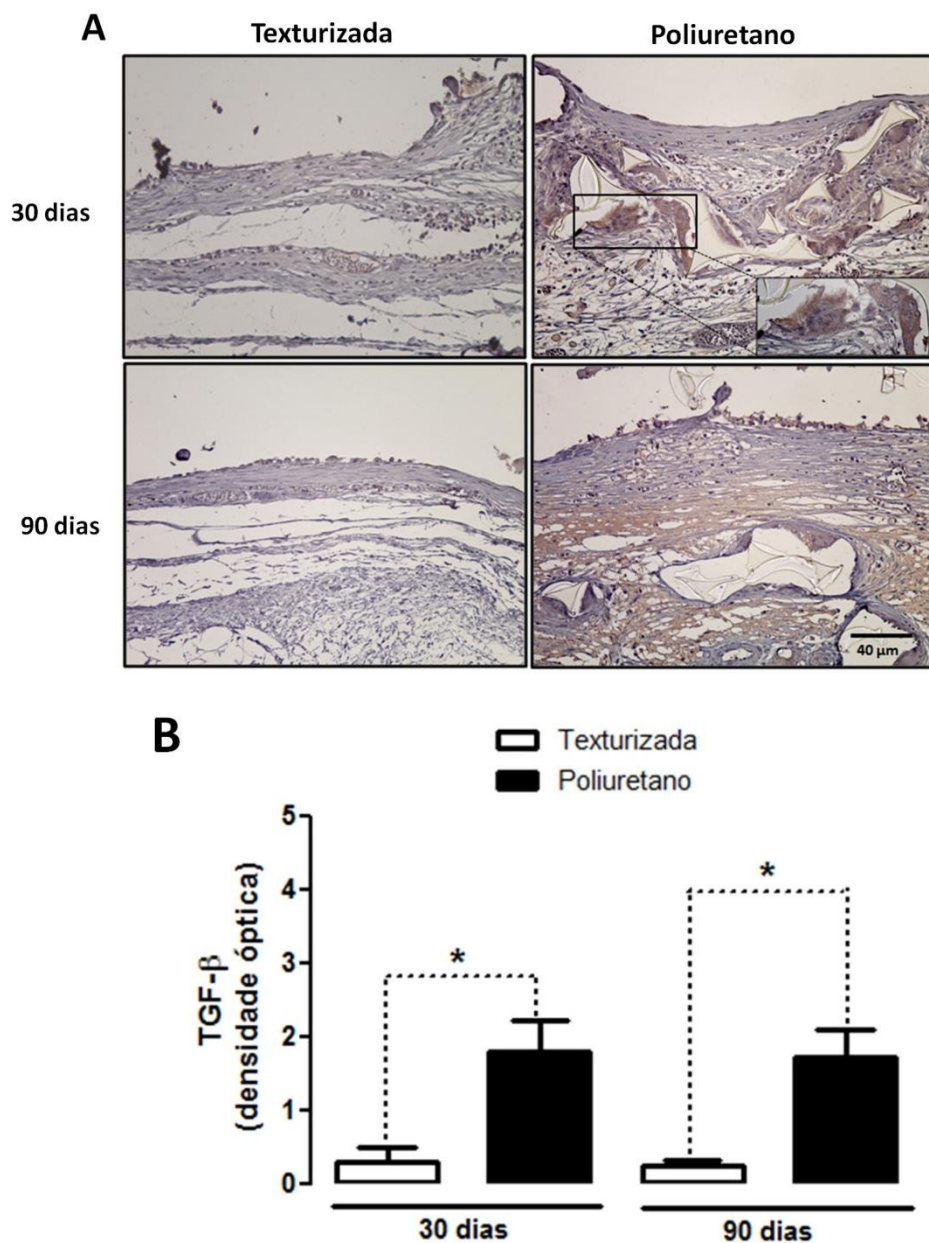


Figura 21- Análise imunohistoquímica para fator transformador de crescimento beta (TGF- β) no tecido capsular ao redor de minipróteses revestidas de poliuretano e texturizadas. (A) imagens representativas de imunohistoquímica para TGF- β no tecido periprostético. O Detalhe demonstra magnificação das células que circundam os cristais de poliuretano. Barra de escala = 40 μ m. (B) Representação gráfica da média de expressão imunohistoquímica para . Os dados representam o valor médio obtido pela análise das cápsulas periprostéticas e os resultados expressos como média \pm E.P.M. . (n=3-11). * P < 0.05 (ANOVA e Newman Keuls test).

FONTE: Vilberto José Vieira (Autor) e Cláudia Pinto Figueiredo

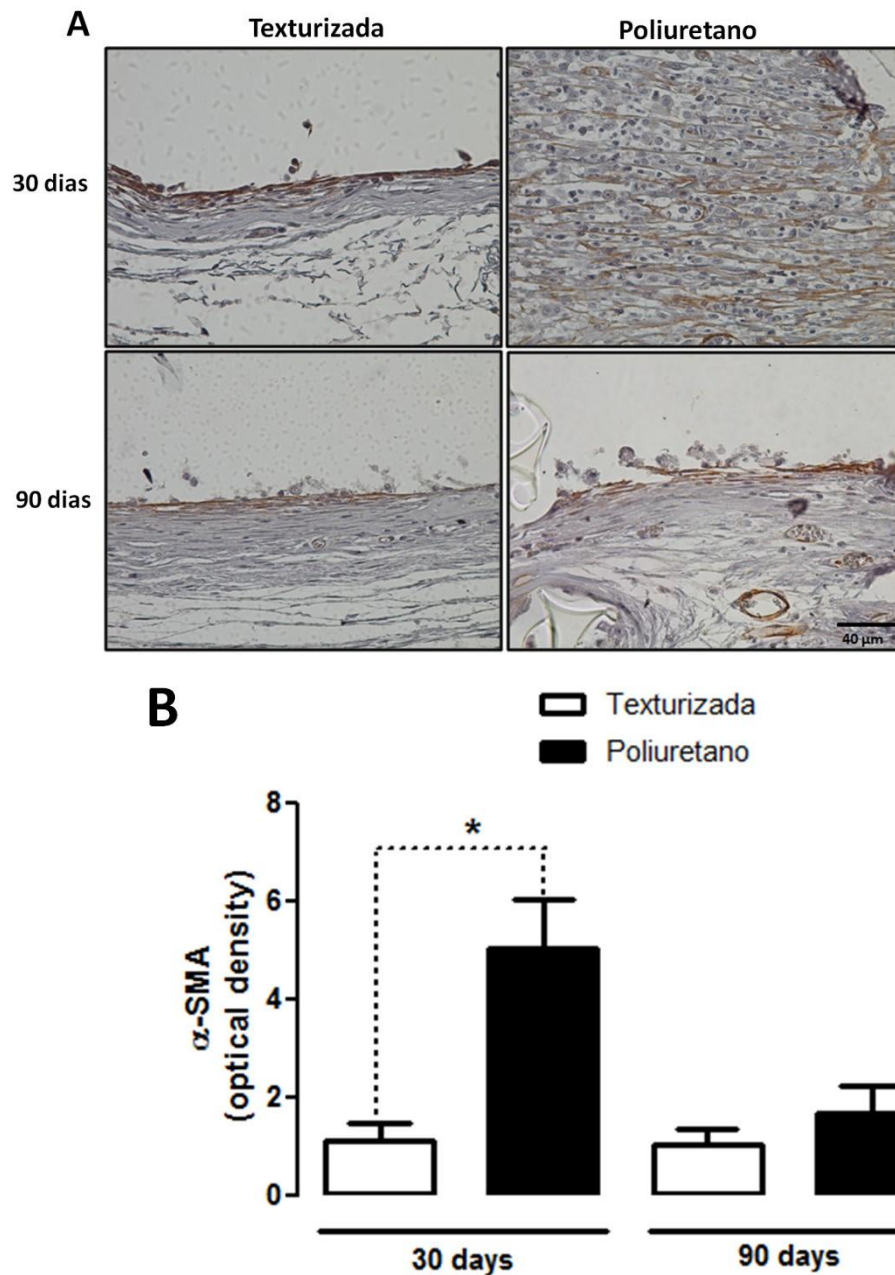


Figura 22 –Análise imunohistoquímica para actina α do músculo liso(α -SMA) no tecido capsular ao redor das mini-próteses revestidas de poliuretano e texturizadas. (A) Imagens representativas da expressão de α -SMA (um marcador para miofibroblastos) no tecido periprostético. Barra de escala = 40 μ m. (B) Representação gráfica da media da expressão imunohistoquímica obtida através da análise das imagens da cápsula periprostética e os resultados foram expressos como média \pm E.P.M. (n=3-11). *** P < 0.001 (ANOVA e Newman Keuls test).

FONTE: Vilberto José Vieira (Autor) e Cláudia Pinto Figueiredo

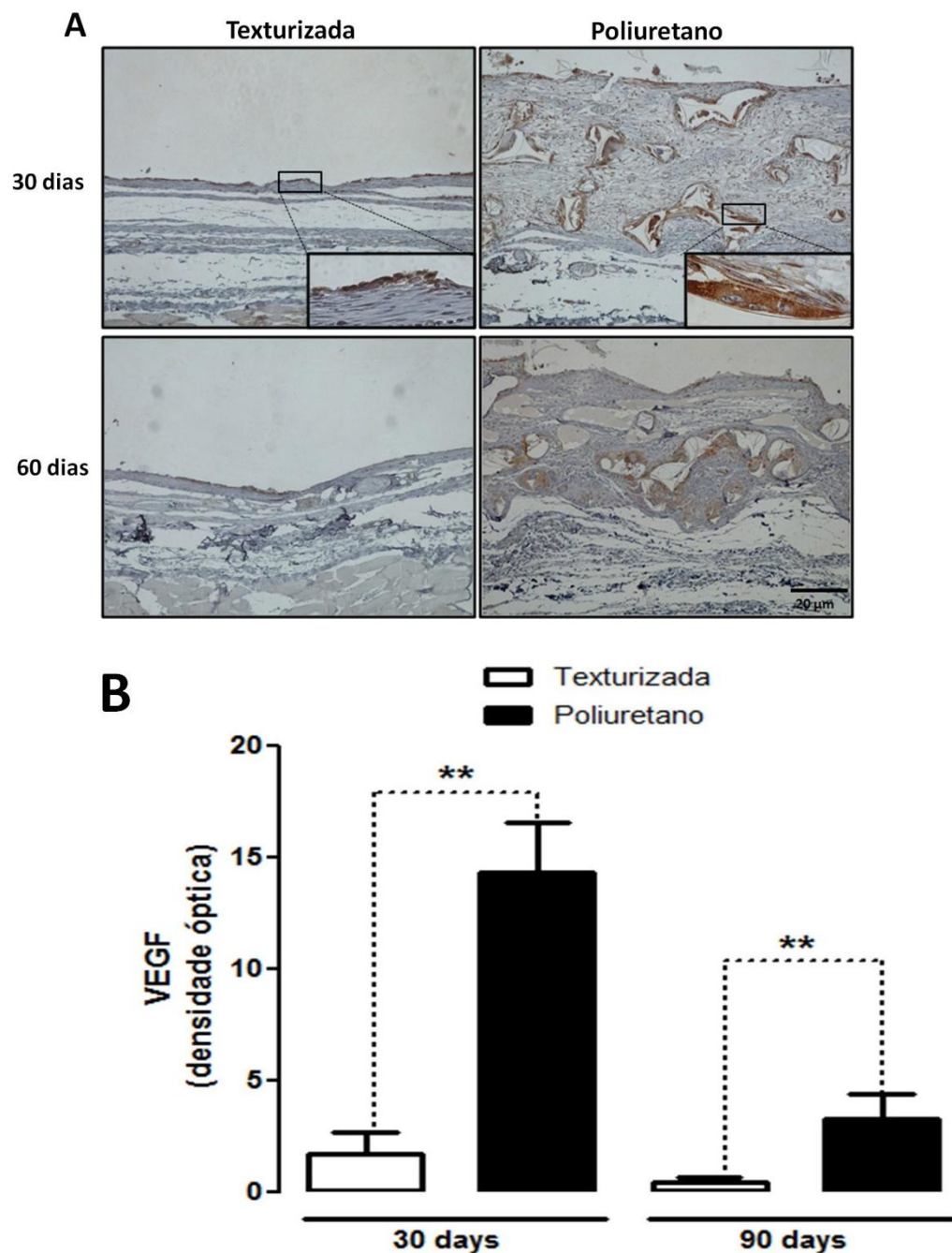


Figura 23 – Análise imunohistoquímica para fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) no tecido capsular ao redor das mini-próteses revestidas de poliuretano e texturizadas. (A) Imagens representativas da expressão imunohistoquímica do VEGF no tecido periprostético. O detalhe demonstra uma intensa expressão do VEGF nas células que circundam os cristais de poliuretano. Barra de escala = 40 μ m. **(B)** Representação gráfica da média da expressão imunohistoquímica para VEGF. Os dados representam o valor médio obtido através da análise de imagens da cápsula periprostética e os resultados expressos com média \pm E. P. M. (n=3-11). * $P < 0.05$ (ANOVA e Newman Keuls test).

FONTE: Vilberto José Vieira (Autor) e Cláudia Pinto Figueiredo

5. DISCUSSÃO

A implantação de um biomaterial induz inflamação, que consequentemente irá promover fibrose e exacerbar a resposta imune adaptativa¹¹⁶. Em contraste com a reação inflamatória aguda, que se caracteriza pela rápida resolução de alterações vasculares, edema e infiltração neutrofílica, a fibrose geralmente resulta de inflamação crônica, definida como uma resposta imune que persiste por vários meses onde a inflamação, a remodelação de tecidos e processos de reparação ocorrem simultaneamente. O implante funciona como um irritante persistente incitando a produção de fatores de crescimento, enzimas proteolíticas, fatores angiogênicos e citocinas fibrogênicas, que estimulam a deposição de elementos do tecido conjuntivo⁹².

Quando os biomateriais são usados na medicina, geralmente são promovidas ações minimizar a inflamação com intenção de reduzir a fibrose. No entanto, estudos recentes sugerem que a extensão da inflamação induzida pelo biomaterial não é um bom preditor de fibrose. Embora a inflamação seja geralmente vista como prejudicial, ele tem efeitos inesperados e potencialmente benéficos sobre a fibrose. A magnitude da inflamação devido a um biomaterial não é preditivo do grau de fibrose¹¹⁶.

Jones e colaboradores¹¹⁶ (2008) sugeriram que o paradigma de que o design dos biomateriais deve procurar minimizar a inflamação deve ser revisto. Esta tarefa é quase impossível, sobretudo tendo em conta a necessidade de cirurgia invasiva para a introdução do implante, mas na verdade ele pode ser contra-produtivo. A inflamação em si não é necessariamente prejudicial. A escolha de um material adequado é fundamental para a modulação do processo inflamatório, uma vez que tem o potencial de transformar a fibrose em regeneração e rejeição em tolerância. Para cumprir este objetivo, precisamos entender como biomateriais causam a inflamação e como a inflamação induzida pelo biomaterial induz a fibrose e a rejeição¹¹⁶. Além disso, há evidências de que os mecanismos de indução de fibrogênese são distintos daqueles que regulam a inflamação e alguns estudos têm sugerido que a inflamação contínua é necessária para reverter o estabelecimento e a progressão da fibrose⁹².

As características do implante podem influenciar o desenvolvimento de contratura capsular e fibrose. Desde a década de 1960, houve cinco gerações de implantes mamários de silicone em gel. A evolução dos implantes mamários têm sido correlacionado a diminuição da incidência de contratura capsular, embora não seja claro se este fato seja

inteiramente devido ao *design* do implante²⁵. A eficácia da texturização das próteses de mama na prevenção da contratura capsular tem sido relatada há mais de 20 anos. Acredita-se que as características da superfície da prótese podem causar alterações no processo cicatrização^{72,117}. Em contrapartida, alguns estudos sugerem que a superfície dos implantes mamários texturizados e suas cápsulas não podem ser diretamente relacionadas com a prevenção de contratura capsular¹¹⁸.

Nosso estudo foi dirigido para avaliar se a implantação de implantes de superfície texturizadas e revestidos de poliuretano podem gerar respostas diferentes de cicatrização em ratas, revelando aspectos sobre a gênese da contratura capsular após mamoplastia de aumento. Como mencionado anteriormente, o uso de implantes mamários revestidos de poliuretano resultou em mamas significativamente mais macias em modelos experimentais, quando comparados com implantes de silicone convencionais^{54, 59, 72, 79, 80, 88-90, 119}.

As próteses de silicone de superfície texturizadas foram inicialmente desenvolvidas para imitar a superfície de implantes de poliuretano, que evidenciaram redução da incidência de contratura capsular²⁵. Estudos de para determinar se a texturização da superfície do implante reduz o risco de contratura capsular produziram resultados contraditórios. Atualmente, há ainda escassez de dados definitivos para confirmar os benefícios da textura no que diz respeito à contratura capsular²⁵. Contudo, o que se sabe atualmente é que qualquer benefício contratura capsular dos implantes de poliuretano está relacionado aos efeitos bioquímicos sobre a cápsula, e não apenas na textura da superfície²⁵.

Nossos resultados corroboram vários estudos^{53, 54, 58, 59, 79, 119, 120}, demonstrando que os implantes revestidos de poliuretano induzem a uma resposta inflamatória mais intensa e prolongada ao redor de implantes, quando comparados com os implantes texturizados. As cápsulas ao redor dos implantes revestidos de poliuretano têm menor formação de tecido fibroso⁸⁵. A comparação dos dois tipos de implantes demonstrou que os implantes revestidos de poliuretano e texturizadas têm comportamento significativamente diferente em relação à espessura total das cápsulas em ambos os grupos de tempo experimental (Fig. 17 A). As cápsulas ao redor dos implantes revestidos de poliuretano foram significativamente mais espessas do que a dos implantes de silicone se superfície texturizada. (Fig. 17 A e B).

Minami e colaboradores, 2006⁷², em estudo com suínos comparando implantes lisos e texturizados concluiu que os implantes texturizados foram relacionadas com cápsulas menos espessas. Não houve nenhuma diferença na espessura total entre as camadas de colágeno dos implantes lisos e as camadas de colágeno dos implantes texturizados considerando os períodos de tempo em que foram analisados. Em contrapartida, o aumento da espessura capsular total ocorreu por espessamento da camada não colagenosa em ambos os implantes lisos e texturizados. A camada não colagenosa era composta por tecido conjuntivo. Os implantes lisos demonstraram um aumento progressivo da camada não colagenosa em contraste com os implantes texturizados. Segundo esses autores, o aumento da espessura total não foi devido a um aumento na espessura da camada de colágeno em ambos os implantes lisos e texturizados⁷².

No que diz respeito à gênese de contratura capsular, a concentração das fibras de colágeno parece ser o principal componente no processo de fibrose. O método Picrosirius de luz polarizada tem permitido a quantificação do estado de agregação do colágeno e descrever a história natural do processo de fibrose em doenças e alguns modelos experimentais⁷². Neste estudo, a camada de colágeno do tecido ao redor do implante de superfície texturizada parece ser mais espessa, contínua e alinhada paralelamente do que os implantes revestidos de poliuretano. A camada de colágeno da cápsula induzida pelos implantes de poliuretano é menos espessa, desalinhada e irregular (Fig. 18). Isto está relacionado com a textura de maior magnitude da espuma de poliuretano, quando comparada com a superfície do implante texturizado. A superfície de poliuretano é uma espuma porosa, e o diâmetro dos poros influencia a qualidade da incorporação nos tecidos e parece que o tecido cresce penetrando na textura e não sobre a textura. Como não é capaz de crescer sobre a textura, a cápsula fibrosa contínua é impedida de se formar, sendo assim possível eliminar a contratura fibrótica, como descrito anteriormente⁷⁹. Então, o aumento da espessura total das cápsulas, evidenciado neste estudo, deveu-se à camada não colágena (tecido conjuntivo neoformado). Portanto, apesar do implante revestido de poliuretano ter induzido uma resposta inflamatória maior e mais intensa, é atualmente aceita a idéia de que o grau de espessura da cápsula é proporcional à gravidade da contratura capsular. Este fato não foi definitivamente comprovado ainda, e alguns estudos não encontraram correlação entre a espessura da capsula e contratura^{25,80}.

Curiosamente, neste estudo foram encontradas diferenças qualitativas entre as cápsulas formadas em torno dos dois tipos de próteses de silicone. As cápsulas formadas ao redor do implante de poliuretano apresentaram um aumento na neovascularização, principalmente em torno dos cristais de poliuretano liberados para o tecido adjacente (Fig. 19). Através da utilização de coloração histológica, foi possível demonstrar que as cápsulas ao redor dos implantes de superfície texturizada apresentaram redução do recrutamento de células inflamatórias e neovascularização, quando comparado com os implantes revestidos de poliuretano (Fig. 19 e 20). Isto é corroborado por um aumento significativo na expressão de mieloperoxidase, um marcador de polimorfonucleares, nas cápsulas ao redor de implantes de poliuretano, quando comparado com próteses texturizadas (Fig. 20 C). Estudos comparando implantes texturizados com implantes lisos descrevem uma maior vascularização nas cápsulas ao redor de implantes texturizados^{30, 85, 89}. Os resultados encontrados em nosso estudo demonstraram maior número de vasos em torno dos implantes revestidos de poliuretano quando comparados com os implantes texturizados.

Rubino e colaboradores (2001)¹²¹ relataram que as cápsulas sem contratura eram mais finas e menos vascularizadas que aqueles com contratura em um estudo clínico de pacientes com e sem contratura utilizando implantes texturizados. Este estudo também sugere que a função da vascularização é incerta, sugerindo a angiogênese seja um fator essencial para o desenvolvimento de cápsulas de contratura¹²¹. Curiosamente, num ensaio *in vitro* da função celular, comparando implantes revestidos de poliuretano, lisos e texturizados, afirmou que nos grupos com espuma de poliuretano, que teve a menor formação de cápsula, a proliferação de fibroblastos foi diminuída enquanto proliferação endotelial foi relativamente preservada. Em contraste, nos grupos com implantes de silicone liso, que têm a maior formação de cápsula, demonstraram maior proliferação de fibroblastos. Estes resultados sugerem que a espuma de poliuretano estimula menos a proliferação de fibroblastos do que os implantes lisos e texturizados, enquanto a angiogênese, que é mais importante na formação de tecido de granulação e a subsequente remodelação, está relativamente preservada. Então, as interações globais do poliuretano com os elementos celulares são mais favoráveis do que com as outras superfícies, o que pode contribuir para a formação de uma cicatriz mais macia. A degradação do revestimento de poliuretano e a liberação de espuma de poliuretano por hidrólise inibem

os fibroblastos e as células endoteliais de se aderir e inibem a contração de colágeno *in vivo*, prolongando a reação inflamatória aguda. Então, observou-se diferenças entre as superfícies com relação aos efeitos sobre as funções celulares e morfologia⁵³.

Uma consequência do processo inflamatório é angiogênese. O crescimento de novos vasos sanguíneos é uma meta para muitos engenheiros de tecidos, para manter vivas as células em grandes estruturas que exigem irrigação sanguínea local¹¹⁶. Angiogênese é, provavelmente, controlada por uma complexa interação de fatores de crescimento, tanto a nível temporal e espacial. A sinalização de VEGF é processo essencial e limitante da taxa na angiogênese fisiológica. Em nosso estudo, a análise imunohistoquímica revelou uma intensa expressão do VEGF na cápsula ao redor dos implantes revestidos de poliuretano, quando comparados com os implantes texturizados, 30 dias e 90 dias após a cirurgia (Fig. 23 B). Como é claramente demonstrado no Figura 23, as células em volta dos cristais de poliuretano foram fortemente marcadas para VEGF, sugerindo uma associação com as propriedades bioquímicas da espuma de poliuretano, que induzem a um aumento na expressão do VEGF ao redor das cápsulas periprotéticas e, conseqüentemente, a vascularização dos tecidos ao redor dos implantes.

Estudos recentes realizados com arcabouços (*scaffolds*) de poliuretano poroso demonstraram que o VEGF tem uma meia-vida curta no corpo, e a estimulação da vascularização de arcabouços implantados tem explorado exaustivamente matrizes poliméricas adequadas para o fornecimento sustentado de VEGF. Até o momento, tem sido inequivocamente demonstrado que a liberação de VEGF a partir de um biopolímero aumenta o crescimento de vasos penetrando nos arcabouços porosos, como a espuma de poliuretano. Além disso, o uso de VEGF para estabilizar novos vasos sanguíneos gerados para integração de arcabouços está sendo investigado com resultados promissores^{122,123}. Nossos resultados sugerem que quanto maior a vascularização dos tecidos ao redor dos implantes, menor o processo fibrose, e, conseqüentemente, menor probabilidade de desenvolver contratura capsular em aumento de mamas.

Estudos experimentais e clínicos concluíram que a gravidade da contratura capsular apresenta uma correlação linear positiva com o grau de reações inflamatórias locais^{24,107,124}. O tecido capsular peri-implante é considerado por alguns autores como uma autêntica reação cicatricial^{80, 108, 125}, e os avanços na biologia molecular tornaram conhecidos os mecanismos da cicatrização. O TGF- β é um potente mediador

inflamatório, pró-fibrótico, angiogênico, e imunomodulador^{108, 126}, que estimula os fibroblastos a produzir colágeno¹⁰⁷. Da mesma forma, tem sido associado com o início da fibrose capsular periprotética, sendo observados níveis elevados de TGF- β 1 e TGF- β 2 em cápsulas ao redor de implantes com fibrose quando comparado com amostras de tecido mamário normal^{108,126}.

Neste estudo, a análise imuno-histoquímica revelou níveis mais elevados de TGF- β nas cápsulas em torno dos implantes de revestidos de poliuretano quando comparados com o implantes de silicone de superfície texturizada (Fig. 21). Isso pode refletir a reação inflamatória mais intensa e mais duradoura, induzida pelos implantes revestidos de poliuretano. Como citado anteriormente, há evidências de que os mecanismos de condução fibrogênese são distintas das que regulam a inflamação, então, tornam-se necessários mais estudos com acompanhamento pós operatórios mais prolongados para entender este achado.

Outro importante mediador celular da fibrose são os miofibroblastos, que quando ativados atuam como a principal célula produtora de colágeno. A secreção de colágeno induzida pelos α -SMA-miofibroblastos é ativada por uma série de mecanismos. Estes incluem fatores autócrinos, sinais parácrinos derivados de linfócitos e macrófagos, e também de agentes associados com padrões moleculares de patógenos produzidos por organismos patogênicos que interagem com receptores de reconhecimento de padrões (isto é, TLR) nos fibroblastos ou o biomaterial por si mesmo tem padrões moleculares que imitam padrões moleculares associados a patógenos. As citocinas (IL-13, IL-21, TGF- β), as quimiocinas (MCP-1, MIP1 β), os fatores angiogênicos (VEGF), os factores de crescimento (PDGF), os receptores proliferadores de peroxissomos ativados (PPAR), as proteínas de fase aguda (PEA), as caspases, e os componentes do sistema renina-angiotensina-aldosterona foram identificados como importantes reguladores da fibrose⁹². Como mostra a Figura 6, a intensidade da expressão de α -SMA da cápsula ao redor de implantes revestidos de poliuretano foi maior quando comparado com os implantes superfície texturizada 30 dias após a cirurgia. No entanto, este evento não foi observado 90 dias após a implantação das próteses de silicone avaliadas.

6. CONCLUSÕES

Os implantes revestidos de poliuretano induziram a maior formação de tecido conjuntivo neoformado, com mais celularidade, vascularização e espessura total da cápsula peri-implante em relação aos implantes de superfície texturizada. Apesar de apresentar espessura maior de tecido conjuntivo neoformado, os implantes revestidos de poliuretano apresentaram, sob luz polarizada com Picrossirius, menor espessura de tecido fibrótico ao redor dos implantes neste estudo comparativo. Os implantes revestidos de poliuretano induziram uma resposta inflamatória mais intensa e prolongada e uma estimulação mais acentuada da secreção de mediadores inflamatórios, como o TGF- β e VEGF quando comparados aos de superfície texturizada. A atividade dos miofibroblastos foi mais intensa nos períodos iniciais nos implantes revestidos de poliuretano, mas aos 90 dias não observamos diferenças de atividade entre os dois tipos de implantes analisados. A estimulação de uma resposta angiogênica com foco na síntese de fatores de crescimento é de grande relevância na regulação da angiogênese em torno dos biomateriais. Foi observada uma alta expressão de VEGF em torno dos implantes revestidos de poliuretano induzida pelos cristais de poliuretano, sendo capaz de aumentar o tecido vascularizado, resultando em uma cápsula com menos fibrose em comparação com os implantes de silicone superfície texturizada. É possível que os eventos de atividade inflamatória intensa não estejam relacionados com fibrose intensa no decorrer do processo cicatricial.

No presente estudo, demonstramos que os componentes químicos utilizados na fabricação de implantes mamários não são inertes, tal como demonstrado pela resposta inflamatória. Assim, outras investigações, com maiores períodos de acompanhamento, utilizando diferentes biomateriais são necessárias.

7. REFERÊNCIAS

- 1 Czerny, V., Pastischer Ersatz der Brusthübsch durch ein Lipoma. Zentralbl Chir, 1895. 27:72.
- 2 Rebello, C., Mamoplastia de aumento: algumas considerações científicas sobre a validade do emprego dos implantes de gel de silicone. Rev bras cir, 1996. 86(5):261-83.
- 3 Longacre, J.J., Correction of the hypoplastic breast with special reference to reconstruction of the "nipple type breast" with local dermo-fat pedicle flaps. Plast Reconstr Surg (1946), 1954. 14(6):431-41.
- 4 Maxwell, G.P. and A. Gabriel, The evolution of breast implants. Clin Plast Surg, 2009. 36(1):1-13.
- 5 Uchida, J., Clinical application of crosslinked dimethylpolysiloxane, restoration of breast, cheeks, atrophy of infantile paralysis, funnel-shaped chest, etc. Japanese Journal of Plastic and Reconstructive Surgery, 1961. 4:303.
- 6 Cronin, T.D. and F.J. GeroW, Augmentation mammoplasty: a new natural feel prosthesis., in Transactions of the Third International Congress of Plastic Surgery. 1963: Amsterdam. 41-9.
- 7 Gampper, Thomas J.; Khoury, Habib; Gottlieb, Wendy; Morgan, Raymond F., Silicone gel implants in breast augmentation and reconstruction. Ann Plast Surg, 2007. 59(5):581-90.
- 8 Barnsley, G.P., L.J. Sigurdson, and S.E. Barnsley, Textured Surface Breast Implants in the Prevention of Capsular Contracture among Breast Augmentation Patients: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. Plast Reconstr Surg, 2006. 117(7):2182-90.
- 9 Hester TR Jr, Nahai F, Bostwick J, Cukic J., A 5-year experience with polyurethane-covered mammary prostheses for treatment of capsular contracture, primary augmentation mammoplasty, and breast reconstruction. Clin Plast Surg, 1988. 15(4):569-85.
- 10 Hester, T.R., Jr., J.B. Tebbetts, and G.P. Maxwell, The polyurethane-covered mammary prosthesis: facts and fiction (II): a look back and a "peek" ahead. Clin Plast Surg, 2001. 28(3); 579-86.
- 11 Hester, T.R.J., J.B. Tebbetts, and G.P. Maxwell, The polyurethane-covered mammary prosthesis: facts and fiction. Clinics in Plastic Surgery, 2001. 28(3);579-86.
- 12 Cohney, B.C., T.B. Cohney, and V.A. Hearne, Nineteen years' experience with polyurethane foam-covered mammary prosthesis: a preliminary report. Ann Plast Surg, 1991. 27(1);27-30.
- 13 Cohney, B.C., Polyurethane foam covered prostheses. Br J Plast Surg, 1992. 45(7);562.
- 14 Pitanguy, I., Estudo retrospectivo das aplicações clínicas da prótese de silicone gel revestida com poliuretano. Bol. Acad. Nac. Med. , 1991. 151;67-72.
- 15 Ashley, F.L., A new type of breast prosthesis: Preliminary report. Plast Reconstr Surg, 1970. 45: 421.

- 16 Capozzi, A. and V.R. Pennisi, Clinical experience with polyurethane-covered gel-filled mammary prostheses. *Plast Reconstr Surg*, 1981. 68(4);512-20.
- 17 Berrino, P., S. Franchelli, and P. Santi, Surgical correction of breast deformities following long-lasting complications of polyurethane-covered implants. *Ann Plast Surg*, 1990. 24(6):481-8.
- 18 Berrino, P., Galli A., Rainero, M.L., Long-lasting complications with the use of polyurethane-covered breast implants. *Br J Plast Surg*, 1986. 39(4);549-53.
- 19 Vázquez, G. and A. Pellon, Polyurethane-coated Silicone Gel Breast Implants Used for 18 Years. *Aesth Plast Surg*, 2007. 31;330-6.
- 20 Gasperoni, C., M. Salgarello, and G. Gargani, Polyurethane-covered mammary implants: a 12-year experience. *Ann Plast Surg*, 1992. 29(4);303-8.
- 21 Melmed, E.P., Treatment of breast contractures with open capsulotomy and replacement of gel prostheses with polyurethane-covered implants. *Plast Reconstr Surg*, 1990. 86(2);270-4.
- 22 Melmed, E.P., Polyurethane implants: a 6-year review of 416 patients. *Plast Reconstr Surg*, 1988. 82(2);285-90.
- 23 Handel, N., Cordray T, Gutierrez J, Jensen JA., A long-term study of outcomes, complications, and patient satisfaction with breast implants. *Plast Reconstr Surg*, 2006. 117(3);757-67; discussion 768-72.
- 24 Poepl, N., Schreml S, Lichtenegger F, Lenich A, Eisenmann-Klein M, Prantl L., Does the surface structure of implants have an impact on the formation of a capsular contracture? *Aesth Plast Surg*, 2007. 31;133-9.
- 25 Adams, W.P., Capsular contracture: What is it? What causes it? How can it be prevented and managed? *Clin Plast Surg*, 2009. 36;119-26.
- 26 Spear, S.L., E.J. Bulan, and M.L. Venturi, Breast augmentation. *Plast Reconstr Surg*, 2006. 118(7 Suppl);188S-196S; discussion 197S-8S.
- 27 McLaughlin, J.K., Lipworth L, Murphy DK, Walker PS., The safety of silicone gel-filled breast implants: a review of the epidemiologic evidence. *Ann Plast Surg*, 2007. 59(5);569-80.
- 28 Danino, A.M., Basmacioglu P, Saito S, Rocher F, Blanchet-Bardon C, Revol M, Servant JM., Comparison of the capsular response to the Biocell RTV and Mentor 1600 Siltex breast implant surface texturing: a scanning electron microscopic study. *Plast Reconstr Surg*, 2001. 108(7);2047-52.
- 29 Artz, J.S., Dinner MI, Foglietti MA, Sampliner J., Breast reconstruction utilizing subcutaneous tissue expansion followed by polyurethane-covered silicone implants: a 6-year experience. *Plast Reconstr Surg* 1991. 88(4);635-9.
- 30 Bastos, E.M., Miguel S. Neto, Maria Teresa S. Alves, Elvino B. Garcia, Rafael A. Santos, Thaís Heink, Juliana B. Pereira and Lydia M. Ferreira, Histologic analysis of zafirlukast's effect on capsule formation around silicone implants. *Aesthetic Plast Surg*, 2007. 31(5);559-65.
- 31 Friedman, H.I, Giurgiutiu V, Bender J, Crachiolo G, Yost MJ., A biomechanical and morphologic analysis of capsule formation around implanted piezoelectric wafer

- active sensors in rats treated with cyclooxygenase-2 inhibition. *Annals of Plastic Surgery* 2008. 60(2);198-203.
- 32 Gancedo, M., Ruiz-Corro L, Salazar-Montes A, Rincón AR, Armendáriz-Borunda J., Pirfenidone prevents capsular contracture after mammary implantation. *Aesthetic Plast Surg*, 2008. 32(1);32-40.
 - 33 Canter, H.I., Konas E, Bozdogan O, Vargel I, Ozbatir B, Oner F, Erk Y., Effect of slow-release 5-Fluorouracil on capsule formation around silicone breast implants: an experimental study with mice. *Aesthetic Plast Surg*, 2007. 31(6);674-9.
 - 34 Scuderi, N., Mazzocchi M, Fioramonti P, Bistoni G., The effects of zafirlukast on capsular contracture: preliminary report. *Aesthetic Plast Surg*, 2006. 30(5);513-20.
 - 35 Baker, J.L.J., Augmentation Mammoplasty: A Comparative Analysis. *Plast Reconstr Surg*, 1999. 103;1763.
 - 36 Cunningham, B., The Mentor Study on contour profile gel silicone MemoryGel breast implants. *Plast Reconstr Surg*, 2007. 120(33S).
 - 37 Bengtson, B.P., B.W. Van Natta, and D.K. Murphy, Style 410 highly cohesive silicone breast implant core study results at 3 years. *Plast Reconstr Surg*, 2007. 120(40S).
 - 38 Janowsky, E.C., L.L. Kupper, and B.S. Hulka, Meta-analyses of the relation between silicone breast implant and the risk of connective-tissue diseases. *N England J Med.*, 2000. 342(11); 781-90.
 - 39 Brinton, L.A. and S.L. Brown, Breast implants and cancer. Review. *J Natl Cancer Inst*, 1997. 89(1341-9).
 - 40 Court B, Auvert V, Sausse A, Diep R., Remplacement d'un segment l'urètre par un tube d'elastomère de silicone chez le chien mâle. *J Urol Nephrol*, 1971. 77(12);562-4.
 - 41 Carpaneda, C.A., Inflammatory Reaction and Capsular Contracture Around Smooth Silicone Implants. *Aesth Plast Surg*, 1997. 21;110-4.
 - 42 Nogueira, M.P., Uso do silicone e poliuretano na uretroplastia dorsal: um estudo experimental em coelhos, in Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. 2008, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo: São Paulo.164.
 - 43 Savatore, J.E. and M.M. P., Poliurethane polymer, its use in osseus lesions: an experimental study. *Ann Surg*, 1959. 149(1);107-9.
 - 44 Zdrala, R.J. and I.J. Zdrala, Biomedical applications of poliurethanes: a review of past promises, present realities, and a vibrant future. *J Biomater Appl*, 1999. 14(1);67-90.
 - 45 Kerrigan, C.A., Report on the Meme breast implant Montreal: McGill University. 1989.
 - 46 Segal, M., A Status report on breast implant safety. FDA Consum. Publication FDA nº 97-4262, 1995.
 - 47 Miró, A.L., Próteses mamárias revestidas com poliuretano: avaliação de 14 anos de experiência. *Rev. Bras. Cir. Plást.*, 2009. 24(3);296-303.
 - 48 Brinton, L.A. and S.L. Brown, Breast implants and cancer. *J Natl Cancer Inst*, 1997. 89(18);1341-9.
 - 49 Hester, T.R., Jr., Ford NF, Gale PJ, Hammett JL, Raymond R, Turnbull D, Frankos VH, Cohen MB, Measurement of 2,4-toluenediamine in urine and serum samples from

- women with Meme or Replicon breast implants. *Plast Reconstr Surg*, 1997. 100(5);1291-8.
- 50 Vazquez, G., A ten-year experience using polyurethane-covered breast implants. *Aesthetic Plast Surg*, 1999. 23(3);189-96.
 - 51 Vazquez, G. and A. Pellon, Polyurethane-coated silicone gel breast implants used for 18 years. *Aesthetic Plast Surg*, 2007. 31(4): p. 330-6.
 - 52 Brand, G., Foam-covered mamary implants. *Clin Plast Surg*, 1984. 73;498.
 - 53 Sank, A. Chalabian-Baliozian J, Ertl D, Sherman R, Nimni M, Tuan TL, Cellular responses to silicone and polyurethane prosthetic surfaces. *J Surg Res*, 1993. 54(1);12-20.
 - 54 Picha, G.J., J.A. Goldstein, and E. Stohr, Natural-Y Meme polyurethane versus smooth silicone: analysis of the soft-tissue interaction from 3 days to 1 year in the rat animal model. *Plast Reconstr Surg*, 1990. 85(6);903-16.
 - 55 Anderson, J.M., A. Rodriguez, and D.T. Chang, Foreign body reaction to biomaterials. *Seminars in Immunology*, 2008. 20;86-100.
 - 56 Henson , P.M., The immunologic release of constituents from neutrophil leukocytes. II. Mechanisms of release during phagocytosis, and adherence to nonphagocytosable surfaces. *J Immunol*, 1971. 107(6);1547-57.
 - 57 Barone, F.E., Perry, Larry; Keller, Tony; Maxwell, G. Patrick, The biomechanical and histopathologic effects of surface texturing with silicone and polyurethane in tissue implantation and expansion. . *Plast Reconstr Surg*, 1992. 90(1);77-86.
 - 58 Dunn, K.W., P.N. Hall, and C.T. Khoo, Breast implant materials: sense and safety. *Br J Plast Surg*, 1992. 45(4);315-21.
 - 59 Picha, G.J. and J.A. Goldstein, Analysis of the soft-tissue response to components used in the manufacture of breast implants: rat animal model. *Plast Reconstr Surg*, 1991. 87(3);490-500.
 - 60 Collis, N., Coleman D, Foo IT, Sharpe DT, Ten-year review of a prospective randomized controlled trial of textured versus smooth subglandular silicone gel breast implants. *Plast Reconstr Surg*, 2000. 106(4); 786-91.
 - 61 Wong, C.H., Samuel M, Tan BK, Song C. Capsular contracture in subglandular breast augmentation with textured versus smooth breast implants: a systematic review. *Plast Reconstr Surg*, 2006. 118(5);1224-36.
 - 62 Unlu, R.E., Yilmaz AD, Orbay H, Can B, Tekdemir I, Sensoz O., Influence of rifampin on capsule formation around silicone implants in a rat model. *Aesthetic Plast Surg*, 2007. 31(4);358-64.
 - 63 Becker, H. and R. Springer, Prevention of capsular contracture. *Plast Reconstr Surg*, 1999. 103(6);1766-8; discussion 1769-74.
 - 64 Becker, H. and R.A.R.N.P. Springer, Prevention of Capsular Contracture. *Plast Reconstr Surg*, 1999. 103;1766.
 - 65 Mladick, R.A., "No-Touch" submuscular saline breast augmentation technique *Aesth Plast Surg*, 1993. 17;183.

- 66 Burkhardt, B.R., Prevention of capsular contracture (Discussion). *Plast Reconstr Surg*, 1999. 103;1769.
- 67 Tarpila, E., Ghassemifar R, Fagrell D, Berggren A., Capsular contracture with textured versus smooth saline-filled implants for breast augmentation: a prospective clinical study. *Plast Reconstr Surg*, 1997. 99(7);1934-9.
- 68 Fagrell, D., A. Berggren, and E. Tarpila, Capsular contracture around saline-filled fine textured and smooth mammary implants: a prospective 7.5-year follow-up. *Plast Reconstr Surg*, 2001. 108(7);2108-12; discussion 2113.
- 69 Mladick, R.A., A. Prevention of capsular contracture (Discussion). *Plast Reconstr Surg*, 1999. 103;1773.
- 70 Biggs, T.M., Augmentation mammoplasty: a comparative analysis. *Plast Reconstr Surg*, 1999. 103(6);1761-2; discussion 1763-5.
- 71 Hakelius, L. and L. Ohlsen, Tendency to capsular contracture around smooth and textured gel-filled silicone mammary implants: a five-year follow-up. *Plast Reconstr Surg*, 1997. 100(6); 1566-9.
- 72 Minami, E., Koh IH, Ferreira JC, Waitzberg AF, Chifferi V, Rosewick TF, Pereira MD, Saldiva PH, de Figueiredo LF., The composition and behavior of capsules around smooth and textured breast implants in pigs. *Plast Reconstr Surg*, 2006. 118(4);874-84.
- 73 Malata, C.M., Feldberg L, Coleman DJ, Foo IT, Sharpe DT., Textured or smooth implants for breast augmentation? Three year follow-up of a prospective randomised controlled trial. *Br. J. Plast.*, 1997. 50(2).
- 74 Burkhardt, B.R. and C.P. Demas, The effect of Siltex texturing and povidone-iodine irrigation on capsular contracture around saline inflatable breast implants. *Plast Reconstr Surg*, 1994. 93(1); 123-8; discussion 129-30.
- 75 Burkhardt, B.R. and E. Eades, The effect of Biocell texturing and povidone-iodine irrigation on capsular contracture around saline-inflatable breast implants. *Plast Reconstr Surg*, 1995. 96(6): 1317-25.
- 76 Coleman, D.J., Sharpe DT, Naylor IL, Chander CL, Cross SE., The role of the contractile fibroblast in the capsules around tissue expanders and implants. *Br. J. Plast. Surg.*, 1993. 46(7);547.
- 77 Bastos, É.M., Neto, M.S., Ferreira, L.M., Garcia, E.B., Liebano, R.E., Han, Y.A., Experimental Model of capsular contracture in silicone implants. *Acta Cir Bras* 2003. (18);22-7.
- 78 Zimman, O.A., Toblli J, Stella I, Ferder M, Ferder L, Inserra F., The effects of angiotensin-converting enzyme inhibitors on the fibrous envelope around mammary implants. *Plast Reconstr Surg* 2007. 120(7);2025-33.
- 79 Brohim, R.M., Foresman PA, Hildebrandt PK, Rodeheaver GT., Early tissue reaction to textured breast implant surfaces. *Ann Plast Surg*, 1992. 28(4);354-62.
- 80 Smahel, J., Histology of the capsules causing constrictive fibrosis around breast implants. *Plast Reconstr Surg*, 1977. 30;324.

- 81 Ginsbach, G., L.C. Busch, and W. Kuhnel, The nature of the collagenous capsules around breast implants: Light and electron microscopic investigations. *Plast Reconstr Surg*, 1979. 74;456.
- 82 Junqueira, L.C., G. Bignolas, and R.R. Brentani, Picrosirius staining polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. *Histochem*, 1979. 11;447-55.
- 83 Montes, G.S. and L.C. Junqueira, The use of the Picrosirius-polarization method for the study of the biopathology of collagen. *Men Inst Oswaldo Cruz*, 1991. 86(3);1-11.
- 84 Cotran, R.S., V. Kumar, and T. Collins, Acute and chronic inflammation. , in *Robbins pathologic basis of disease*. , W.B. Saunders, Editor. 1999. 50-88.
- 85 Bucky, L.P., Ehrlich HP, Sohoni S, May JW Jr., The capsule quality of saline-filled smooth silicone, textured silicone, and polyurethane implants in rabbits: a long-term study. *Plast Reconstr Surg*, 1994. 93(6); 1123-31; discussion 1132-3.
- 86 Bern, S., A. Burd, and J.W.J. May, The biophysical and histologic properties of capsules formed by smooth and textured silicone implants in the rabbit. . *Plast Reconstr Surg* 1992. 89;1037-42.
- 87 Caffee, H.H., Textured silicone and capsule contracture. *Ann Plast Surg*, 1990. 24(197-9).
- 88 Brohim, R.M., Foresman PA, Grant GM, Merickel MB, Rodeheaver GT., Quantitative monitoring of capsular contraction around smooth and textured implants. . *Ann Plast Surg* 1993. 30;424-34.
- 89 Clugston, P.A., Perry LC, Hammond DC, Maxwell GP., A rat model for capsular contracture: the effects of surface texturing. *Ann Plast Surg*, 1994. 33(6);595-9.
- 90 Ksander, G.A., L.M. Vistnes, and J. Kosek, Effect of implant location on compressibility and capsule formation around miniprotheses in rats, and experimental capsule contracture. *Ann Plast Surg*, 1981. 6(3);182-93.
- 91 Mendes, P.R., Bins-Ely, J., Lima, E. A. S., Vasconcellos, Z.A.A., d'Acampora, A.J., Neves, R. E., Histological study on acute inflammatory reaction to polyurethane-coated silicone implants in rats. *Acta Cir Bras*, 2008. 23(1);93-101.
- 92 Wynn, T.A., Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *J Pathol*, 2008. 214(2);199-210.
- 93 Woods, R.L., A histologic comparison of hidron and zinc oxide eugenol as endodontic filling materials in primay teeth of dogs. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol*, 1994. 58;82-93.
- 94 Williams, D.F., On the mechanisms of biocompatibility. *Biomaterials*, 2008. 29(20); 2941-53.
- 95 Larsen, G.L. and P.M. Henson, Mediators of inflammation. *Annu Rev Immunol*, 1983. 1; 335-59.
- 96 Takahashi, H., Microbiological, pathological, inflammatory, immunological and molecular biological aspects of periradicular disease. *Int. Endod. J.*, , 1998. 31;311-25.

- 97 Dalu, A., Blaydes BS, Lomax LG, Delclos KB., A comparison of the inflammatory response to a polydimethylsiloxane implant in male and female Balb/c mice. *Biomaterials*, 2000. 21(19);1947-57.
- 98 Kumar, V., R.S. Cortran, and S.L. Robbins, *Inflamação aguda e crônica*, in *Patologia Básica*. 1994, Guanabara-Koogan: Rio de Janeiro.
- 99 Consolaro, A., *Inflamação e Reparo: Um sílabo para a compreensão clínica e implicações terapêuticas*. 2009, Maringá.
- 100 Roitt, I., J. Brostoff, and D. Male, *Citocinas e receptores das citocinas*, in *Immunologia*, Manole, Editor. 2002: São Paulo. 119-41.
- 101 Huang, T.H., Inflammatory cytokines reaction elicited by root-end filling materials. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2005. 73(1);123-8.
- 102 Minamikawa, H., Deyama Y, Nakamura K, Yoshimura Y, Kaga M, Suzuki K, Yawaka Y., Effect of mineral trioxide aggregate on rat clonal dental pulp cells: expression of cyclooxygenase-2 mRNA and inflammation-related protein via nuclear factor kappa B signaling system. *J Endod*, 2009. 35(6);843-6.
- 103 Lee, Y.J., Eugenol modulates cyclooxygenase-2 expression through the activation of nuclear factor kappa B in human osteoblasts. *J. Endod*, 2007. 33(10);1177-82.
- 104 Hayden, M.S., A.P. West, and S. Ghosh, NF-kappaB and the immune response. *Oncogene*, 2006. 25(51);6758-80.
- 105 Guven, G., Altun, C., Günhan O., Gurbuz, T., Basak, F., Co-expression of cyclooxygenase-2 and vascular endothelial growth factor in inflamed human pulp: an immunohistochemical study. *J Endod*, 2007. 33(1);18-20.
- 106 Soder, B.L., Propst JT, Brooks TM, Goodwin RL, Friedman HI, Yost MJ, Gourdie RG., The Connexin43 Carboxyl-Terminal Peptide ACT1 Modulates the Biological Response to Silicone Implants. *Plast Reconstr Surg*, 2009. 123(5);1440-51.
- 107 Prantl, L., Schreml, Stephan M.D.; Fichtner-Feigl, Stefan M.D.; Pöpl, Nina M.D.; Eisenmann-Klein, Marita M.D.; Schwarze, Hartmut M.D.; Fuchtmeyer, Bernd M.D., Clinical and morphological conditions in capsular contracture formed around silicone breast implants. *Plast Reconstr Surg*, 2007. 120(1);275-84.
- 108 Ruiz-de-Erenchum, R., D.d.l. Herrerías, and B. Hontanilla, Use of the Transforming Growth Factor-1 Inhibitor Peptide in Periprosthetic Capsular Fibrosis: Experimental Model with Tetraglycerol Dipalmitate. *Plast Reconstr Surg*, 2005. 116(5).
- 109 Baker, J., L. , Jr., C.L. Chander, and R. LeVier, R., Occurrence and activity of myofibroblasts in human capsular tissue surrounding mammary implants. *Plast Reconstr Surg*, 1992. 90(77).
- 110 Botero, T.M., Shelburne CE, Holland GR, Hanks CT, Nör JE., TLR4 mediates LPS-induced VEGF expression in odontoblasts. *J Endod*, 2006. 32(10);951-5.
- 111 Ferrara, N., Molecular and biological properties of vascular endothelial growth factor. *J Mol Med*, 1999. 77(7);527-43.
- 112 Ferrara, N., H.P. Gerber, and J. LeCouter, The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med*, 2003. 9(6);669-76.

- 113 Nissen, N.N., Vascular endotelial growth factor mediates angiogênica activity during the phase of wound healing. . Am. J. Pathol, 1998. 152(6);1445-52.
- 114 Iniguez, M.A., Rodríguez A, Volpert OV, Fresno M, Redondo JM., Cyclooxygenase-2: a therapeutic target in angiogenesis. Trends Mol Med, 2003. 9(2);73-8.
- 115 Majima, M., Cyclo-oxygenase-2 enhances basic fibroblast growth factor-induced angiogenesis through induction of vascular endothelial growth factor in rat sponge implants. . Br J Pharmacol. 2002. 130;641-9.
- 116 Jones, K.S., Effects of biomaterial-induced inflammation on fibrosis and rejection. Seminars in Immunology, 2008. 20;130-6.
- 117 Siggelkow, W., Faridi A, Spiritus K, Klinge U, Rath W, Klosterhalfen B., Histological analysis of silicone breast implant capsules and correlation with capsular contracture. Biomaterials, 2003. 24;1101-9.
- 118 Danino, A., F. Rocher, and C. Blanchet-Bardon, A scanning electron microscopy study of porus-textured breast implants and their capsules. Description of the "Velcro" effect of porous textured breast prostheses. Ann Chir Plast Esthet, 2001. 46;23.
- 119 Batra, M., S. Bernard, and G. Picha, Histologic comparison of breast implant shells with smooth, foam, and pillar microstructuring in a rat model from 1 day to 6 months. Plast Reconstr Surg, 1995. 95(2);354-63.
- 120 Santerre, J.P., Woodhouse K, Laroche G, Labow RS., Understanding the biodegradation of polyurethanes: from classical implants to tissue engineering materials. Biomaterials, 2005. 26(35);7457-70.
- 121 Rubino, C., Mazzarello V, Farace F, D'Andrea F, Montella A, Fenu G, Campus GV., Ultrastructural anatomy of contracted capsules around textured implants in augmented breasts. Ann Plast Surg, 2001. 46;95-113.
- 122 Davies, N., Dobner S, Bezuidenhout D, Schmidt C, Beck M, Zisch AH, Zilla P., The dosage dependence of VEGF stimulation on scaffold neovascularisation. Biomaterials, 2008. 29(26);3531-8.
- 123 Schmidt, C., Bezuidenhout D, Beck M, Van der Merwe E, Zilla P, Davies N., Rapid three-dimensional quantification of VEGF-induced scaffold neovascularisation by microcomputed tomography. Biomaterials, 2009. 30(30);5959-68.
- 124 Moreira, M., Fagundes DJ, de Jesus Simões M, de Oliveira MC, dos Santos Previdelli IT, Moreira AC., Zafirlukast Pocket Delivery Impairs the Capsule Healing Around Textured Implants in Rats. Aesth Plast Surg, 2009. 33;90-7.
- 125 Carter, D., Tissue reaction to breast implants. Am.J. Clin. Pathol., 1994. 102;565.
- 126 Khun, A., S. Singh, and P.D. Smith, Periprosthetic breast capsules contain the fibrogenic cytokines TGF β 1 and TGF β 2, suggesting possible new treatment approaches. Annals of Plastic Surgery, 2000. 44;387.

APENDICE

UP-REGULATION OF VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR (VEGF) IN CAPSULE FORMATION AROUND POLYURETHANE-COATED MAMMARY IMPLANT IN RATS

Manuscrito submetido à revista *Plast Reconstr Surg*.

Up-regulation of vascular endothelial growth factor (VEGF) in capsule formation around implanted polyurethane-coated silicone prosthesis in rats

Running title: VEGF expression in silicone breast implant

Vilberto J. Vieira^{1,2}, Armando J. d'Acampora^{1,3}, Ana Beatriz W. Marcos¹, Gabriella Di Giunta⁴,
Zulmar A. A. de Vasconcellos^{2,5}, Jorge Bins-Elly^{2,5}, Rodrigo d'Eça Neves^{5,7}, and Cláudia P.
Figueiredo^{6*}

¹ Pós-Graduação em Ciências Médicas, Centro de Ciências da Saúde (CCS), Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, Brazil

² Cirurgia Plástica, Hospital Universitário (HU), UFSC, Florianópolis, SC, Brazil

³ Serviço de Cirurgia do Hospital Florianópolis, Florianópolis, SC, Brazil

⁴ Serviço de Anatomia Patológica, HU-UFSC, Florianópolis, SC, Brazil

⁵ Departamento de Clínica Cirúrgica, HU-UFSC, Florianópolis, SC, Brazil

⁶ Departamento de Ciências Fisiológicas, Centro de Ciências Biológicas (CCB), UFSC, Florianópolis, SC, Brazil

⁷ Chefe do Serviço de Cirurgia Plástica, Hospital Universitário (HU), UFSC, Florianópolis, SC, Brazil

***Corresponding author:** Dra. Cláudia Pinto Figueiredo, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Fisiologia, Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Campus Universitário, Trindade, Florianópolis, SC, Brazil CEP 88.040-970, Phone (55) 48 3721 9491; Fax: (55) 48 3224 0031. E-mail: claudia@ccb.ufsc.br

Abstract

Capsular contracture is one of the most common complications associated with silicone breast implants. The surface of the implant is one of the factors often associated with the occurrence of capsular contracture. Thus, this study evaluated the differences in morphological and molecular characteristics of the capsule formed around polyurethane-coated versus textured surface-silicone implants in rats, mainly the modifications in angiogenesis and the VEGF expression. The capsules around the polyurethane-coated silicone prosthesis were significantly thicker than the textured surface-silicone implant 30 and 90 days after surgery. Furthermore, the layer adjacent to the polyurethane-coated silicone implant was more cellular and irregular than the layer around the textured surface-silicone implant. Textured implant periprosthetic capsules presented less inflammatory cells and vascularization than the polyurethane-coated silicone implant. The collagen layer of periprosthetic tissue of textured implants appears to be more continuous and parallel-aligned than polyurethane-coated implants. Immunohistochemical analysis revealed high levels of TGF- β and VEGF in the capsules around the polyurethane-coated silicone implants when compared with the textured surface silicone implants. These findings suggest that the higher VEGF expression surrounding the prostheses induced by polyurethane crystals, therefore, were able to increase the tissue vascularization, resulting in a softer capsule compared with the textured surface-silicone implant.

Key words: Angiogenesis, Fibrous tissue, Growth factors, Inflammation, Polyurethane, Silicone elastomer.

1. Introduction

Silicone breast implants are generally accepted for the use in breast reconstruction and augmentation mammoplasty. Capsular contracture remains one of the most common complications for both aesthetic and reconstructive breast surgery. Many possible etiologies of capsular contracture have been studied in breast reconstruction and augmentation mammoplasty^{72, 78, 127, 128}. Potential etiologies include the hypertrophic scar hypothesis, myofibroblasts, silicone gel bleed, hematoma theory, age and the infections theory²⁵. However, research concerning etiology and prevention of capsular contracture has not been very fruitful^{24, 25, 33, 124, 129}.

As different types of breast implant surfaces may be related to different rates of capsular contracture, clinical and experimental studies have focused on this area. According to these studies, the use of textured silicone surface in breast prostheses seems to have reduced or delayed the incidence of capsular contracture in clinical practice^{34, 61, 72}. Much attention has been given to the type of implant surface texture (smooth versus textured) and its impact on the development of capsular contracture¹²⁸. It is believed that the texture alters the host interface, inducing a multiplanar conformation of collagen fibers, which results in thinner, more pliable capsules that are more resilient and less likely to contract¹³⁰. In the past decades, several authors have reported that implantation of textured polyurethane implants resulted in significantly softer breasts than conventional silicone implants^{9, 10}. It was believed that the lack of capsular contracture was due to microencapsulation of particles of polyurethane following peripheral degradation and phagocytosis of polyurethane fragments as scar tissue grow into the foam coating of the implant. In addition, the microencapsulation seems to dissipate the myofibroblast contractile forces^{52, 58, 131}.

The development of fibrous capsules around implants is caused by the organism healing response in the presence of a foreign body, and has been associated with an excessive fibrotic scar growth around the breast implant^{72, 92, 132}. Soon after prosthesis implantation, fibrinogen and inflammatory cells, such as macrophages and giant cells, migrate around the implant, where transforming growth factor β (TGF- β), and other growth factors and inflammatory cytokines are released. In response to these signals, quiescent fibroblasts are transformed into α -smooth muscle actin-positive myofibroblasts

(α -SMA), which induce the synthesis of extracellular matrix proteins and contribute to the formation of a dense and contracted fibrous capsule^{32, 133, 134}. In this inflammatory milieu are also found cytokines and chemokines, which are mitogenic and chemotactic for endothelial cells, promoting vascular remodeling associated with formation of new blood vessels⁹².

Vascular endothelial growth factor (VEGF) is highly specific in promoting proliferation and signalling of endothelial cells, by binding to cell surface VEGF-receptors^{112, 135}. VEGF is a potent angiogenic factor *in vivo*¹³⁶, which increased vascular permeability during the early phases of wound healing, theoretically allowing deposition of the fibrin-rich matrix necessary for cellular migration and proliferation¹³⁷. Interestingly, different studies have shown that antibody neutralization of VEGF inhibits granulation tissue formation¹³⁸ in a variety of biomedical devices^{139, 140}, highlighting the enormous applicability of VEGF.

In this manuscript, we investigated the differences in cellular and molecular characteristics of the capsule formed around polyurethane-coated versus textured surface-silicone implants in rats, especially the modifications in the VEGF tissue expression and their relation to the levels of TGF- β and α -SMA.

2. Materials and Methods

Animals

Thirty two female *Wistar* rats (age 60-50 days; weight 200-250 g) from our own colony were housed under optimum light, temperature, and humidity conditions (12/12 h light/dark cycle, 22 \pm 1°C, under 60-80% humidity), with food and water provided *ad libitum*. Each animal was kept in an individual cage. All procedures within this study followed the “Principles of Laboratory Animal Care” from the National Institutes of Health's (NIH) publication number 85-23 and were approved by the Ethics Committee of UFSC. A 2 cm diameter textured and polyurethane-coated shell-shaped silicone implants were crafted for research (Silimed, Rio de Janeiro, Brazil).

The animals were distributed in four experimental groups consisting of 5-11 animals per group. Two groups received a polyurethane-coated silicone implant; the first group was sacrificed 30 days after surgery and the second group was killed 90 days after implantation of prostheses. The others experimental groups received a textured surface-silicone implant and were also sacrificed 30 or 90 days after surgical procedure. Capsular tissue of both implants was removed and fixed in 4% paraformaldehyde *overnight* (Sigma, CA) and submitted to conventional histological processing for later histological and immunohistochemical analyses.

Surgical Procedure

Anesthesia was induced using 35 mg/kg ketamine hydrochloride and 5 mg/kg xylazine via intramuscular administration. Preoperative preparations included shaving the animal's back region and cleaning the surgical field using 10% povidone-iodine. A 2 cm-incision through the skin and panniculus carnosus was performed on the animal's back 1 cm below the scapulas in a longitudinal orientation. A pocket of 2.5 cm of diameter was created where the implants were introduced. The skin incision was closed with 5/0 monofilament absorbable sutures. After surgery, the animals were allowed to recover and had free access to the food. After the described surgical procedure, the animals were observed during 30 or 90 days and were killed at the end of the observation of each period. The tissues around the capsules collected, including skin and muscle, were submitted to histological and immunohistochemical analyses.

Histological Procedure

Each excised tissue was immediately fixed in 4% paraformaldehyde solution *overnight*. All tissues were processed by using conventional histochemical techniques, embedded in paraffin wax and then sectioned at 3-5 μm thickness, mounted on glass slides and deparaffinized. For general histology analysis, sections of the samples were stained with Haematoxylin–Eosin, Masson's trichrome, and Picrosirius (Sirius red reagent) staining methods. Capsules sections were histologically examined in cross sections at 200x magnification. Histological changes in each sample were graded from 0 to 3 as follows: 0, 0-25 inflammatory cells per field or no vascularization; 1, 26-150 inflammatory cells per field or low vascular density; 2, 151-300 inflammatory cells per field or moderate

vascular density; and 3, more than 301 inflammatory cells per field or high vascular density¹⁴¹. The total thickness of the pericapsular tissue and the thickness of the collagen and noncollagen layers were determined with an average of eight measurements taken throughout a slide of each specimen. Eight images of each stained capsule (8 images per animal) were acquired using a Sight DS-5M-L1 digital camera (Nikon, Melville, NY, USA) connected to an optical microscope (Eclipse 50i; Nikon, Melville, NY, USA) at 400x magnification. The capsule thickness (μm) was measured in the largest portion of each field and the results were expressed as mean \pm standard deviation (SD). The use of polarized picrosirius allowed us to distinguish areas of the capsules rich in collagen from areas without collagen. For quantification of collagen fibers, we captured the images from Picrosirius (polarization microscopy) and an optical density (O.D.) threshold that best discriminated the staining of collagen fibers was obtained using the NIH ImageJ 1.36b imaging software (NIH, Bethesda, MD, USA). The total pixels intensity was determined and data were expressed as O.D. The data represent the average value obtained by the analysis of images of periprosthetic capsule.

Immunohistochemical analysis

Immunohistochemical detection was performed using rabbit anti-TGF- β (1:100, Abcam Inc., Cambridge, MA, USA), rabbit anti-myeloperoxidase (1:300, DAKO, Carpinteria, CA, USA), mouse anti- α -SMA (1:200, DAKO) and mouse anti-VEGF (1:500, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA) antibodies. Following quenching of endogenous peroxidase with 1.5% hydrogen peroxide in methanol (v/v) for 20 min, high temperature antigen retrieval was performed by immersion of the slides in a water bath at 95 to 98°C containing 10 mmol/L trisodium citrate buffer, pH 6.0, for 45 min. The slides were then processed using the Vectastain Elite ABC reagent (Vector Laboratories, Burlingame, CA) according to the manufacturer's instructions. After the appropriate biotinylated secondary antibody, sections were developed with 3,3'-diaminobenzidine (Dako Cytomation, Glostrup, Denmark) in chromogen solution and counterstained with Harris's hematoxylin. Negative control experiments included omission of primary antibody as well as substitution of the primary antibody by equivalent dilutions of nonimmune rabbit IgG serum, using the same staining protocol,

and were devoid of specific immunoreaction product. The immunohistochemical staining was evaluated using the NIH ImageJ 1.36b imaging software (NIH, Bethesda, MD, USA) as previously described^{142, 143}. The total pixels intensity was determined using a threshold color *plugging* of the software and data were expressed as O.D. For quantitative analysis of myofibroblasts, brown-colored muscle vessels were identified and excluded from expression of myofibroblast population presented in the capsular layer. The data represent the average value obtained by the analysis of images of the periprosthetic capsule.

Statistical Analysis

All data are expressed as mean \pm SEM. Statistical evaluation of the results was performed using analysis of variance (ANOVA). After significant analyses of variance, multiple *post hoc* comparisons were performed using the Newman Keuls test. The accepted level of significance for the tests was $P < 0.05$. All tests were performed using the Statistica software package (StatSoft Inc., Tulsa, OK).

3. Results

Histological analysis of the periprosthetic capsules showed significant differences regarding the total thickness of the capsules of the two types of implant in both period analysed (Fig 1A). The capsules around the polyurethane-coated silicone implants were significantly thicker than the textured surface-silicone implant, in the periods of 30 days ($P = 0.0002$) and 90 days ($P < 0.0001$) (Fig. 1A, B). The collagenous layer was thinner in polyurethane-coated implant when compared with textured surface-silicone prostheses (Fig. 2A, B), 30 ($P = 0.0023$) and 90 days ($P = 0.0257$) after surgery. On the other hand, the increase in total capsular thickness occurred an enlargement of the noncollagenous layer in the polyurethane-coated implants. Moreover, the collagen layer of periprosthetic tissue textured implants appears to be more continuous and parallel-aligned than polyurethane-coated implants (Fig. 2A).

There were also qualitative differences between the capsules formed around the two types of silicone prostheses. The layer adjacent to the polyurethane-coated silicone

implant was more cellular and irregular than the layer around the textured surface-silicone implant (Figure 1A). Furthermore, the capsules formed around the polyurethane implants showed an increase in neovascularization, mainly surrounding the polyurethane crystals released into the adjacent tissue (Fig. 3). By means of histological staining, we could demonstrate that periprosthetic capsules around textured implant presented reduced recruitment of inflammatory cells ($P= 0.0085$) (Fig. 3 and 4A) and neovascularization ($P= 0.036$) (Fig. 3 and 4B), when compared with polyurethane implant, 30 days and 90 days after surgical. In addition, we observed a significant increase in myeloperoxidase expression, a polymorphonuclear marker, in the capsules around polyurethane implants when compared with textured prostheses ($P\leq 0.0293$) (Fig. 4C).

Concerning another important growth factor, immunohistochemical analysis revealed high levels of TGF- β in the capsules around the polyurethane-coated silicone implants ($P= 0.0352$) when compared with the textured surface silicone implant (Fig. 5). As show in Figure 6, the intensity of the α -SMA expression from the capsule around polyurethane implants was more pronounced than the one from the textured surface-silicone implant, 30 days after surgical ($P=0.0213$). However, we did not observe any difference in α -SMA expression when compared to polyurethane and textured implants after 90 days ($P= 0.4418$) (Fig. 6B).

Of great Interest, the immunohistochemical staining revealed an intense VEGF expression in polyurethane implant capsule implants when compared with the textured implants, both 30 days ($P= 0.0021$) and 90 days ($P= 0.0380$) after surgery (Fig. 7B). The immunostaining pattern of VEGF demonstrated an intense expression in the cells that surround the polyurethane crystals as illustrated in the inset of Figure 7A.

4. Discussion

Biomaterial implantation induces inflammation, which is thought to cause fibrosis and exacerbate adaptive immune responses¹¹⁶. In contrast to acute inflammatory reactions, which are characterized by rapidly resolving vascular changes, oedema and neutrophil infiltration, fibrosis typically results from chronic inflammation, defined as an immune response that persists for several months and in which inflammation, tissue remodeling and repair processes occur simultaneously. The implant acts as a persistent

irritant that sustains the production of growth factors, proteolytic enzymes, angiogenic factors and fibrogenic cytokines, which stimulate the deposition of connective tissue elements⁹². Thus, when biomaterials are used in medicine, attempts are usually made to minimize inflammation. However, recent results suggest that the extent of biomaterial-induced inflammation is not a good predictor of fibrosis. Although inflammation is usually viewed as detrimental, it has unexpected and potential beneficial effects on fibrosis. However, the magnitude of inflammation due to a biomaterial is not predictive of the extent of fibrosis¹¹⁶.

Jones and colleagues (2008) have begun to contradict the paradigm that biomaterials design should aim to minimize inflammation. Not only is this task nearly impossible, particularly given the necessity of invasive implant surgery, but in fact it may be counter-productive. Inflammation itself is not necessarily detrimental and if it can be controlled, it could be beneficial. The choice of an appropriate material is essential for the modulation of the inflammatory process as it has the potential to transform fibrosis into regeneration and rejection into tolerance. In order to accomplish this goal, we need to understand how biomaterials cause inflammation and how biomaterial-induced inflammation directs fibrosis and rejection¹¹⁶. In addition, there is accumulating evidence that the mechanisms driving fibrogenesis are distinct from those regulating inflammation, and some studies have suggested that ongoing inflammation is needed to reverse established and progressive fibrosis⁹².

The characteristics of the implant can influence the development of capsular contracture and fibrosis. Since the late 1960s, there have been five generations of silicone gel breast implants, each of which has represented a change in the manufacturing process and the design. The evolution of mammary implants have correlated with a decreasing incidence of capsular contracture, although it is not clear if this is entirely due to implant design²⁵. The efficacy of breast prosthesis texture in the prevention of capsular contracture has been reported for more than 20 years. It is believed that the characteristics of the surface of the prosthesis may cause changes in the healing process^{72, 144}. In contrast, some studies suggest that the surface of textured breast implants and their capsules may not be directly related to the prevention of capsular contracture¹¹⁸.

Our study was directed toward the evaluation whether the implantation of textured and polyurethane-coated implants could generate different healing responses in rats, disclosing aspects about the genesis of capsular contracture after breast augmentation. As previously mentioned, the polyurethane-coated silicone prostheses resulted in significantly softer breasts in experimental models when compared with conventional silicone implants^{54, 59, 72, 79, 80, 88-90, 119}. Surface textured-silicone prostheses were initially developed to mimic surface of polyurethane implants, which provide a reduction in capsular contracture²⁵. The studies determining whether texturing the surface of the implant reduces the risk of capsular contracture have yielded contradictory results. Currently, there is still a lack of definitive data to support the benefits of texture with regard to capsular contracture²⁵. Nevertheless, what is currently known is that any capsular contracture benefit of polyurethane devices was related to biochemical effects on the capsule and not only the surface texture²⁵.

Our results corroborate with several studies^{53, 54, 58, 59, 79, 119, 120}, which demonstrate that the polyurethane-coated implants elicit a more intense and prolonged inflammatory response surrounding implants when compared with the textured implants. The capsules around the polyurethane implants have the least fibrous tissue deposition⁸⁵. A comparison of both implant types showed that polyurethane-coated and textured surfaces are significantly different with regard to the total thickness of the capsules in both experimental time groups (Fig 1A). The capsules around the polyurethane-coated silicone implants were significantly thicker than the textured surface silicone implant. (Fig. 1A, B).

Minami and colleagues⁷² in a study with pigs comparing smooth and textured implants found that textured implants were related to less thickening of the capsules. The collagen layer of smooth implants and the collagen layer of the textured implants did not show any difference considering the periods of time in which the total thickness was analysed. On the other hand, the increase in total capsular thickness occurred by thickening of the noncollagenous layer in both smooth and textured implants. The noncollagenous layer was composed of conjunctive tissue. Smooth implants showed a progressive increase of noncollageous layer in contrast to textured implants. According

to these authors, the increase in the total thickness was not due to an increase in thickness of the collagen layer in both smooth and textured implants⁷².

Concerning the genesis of capsular contracture, the concentration of collagen has been shown to be the main component in the fibrosis process. The picrosirius polarization method has permitted some authors to quantify the state of collagen aggregation and to describe the natural history of the fibrosis process in diseases and some experimental models⁷². In this study, the collagen layer of periprosthetic tissue textured implants appears to be more thickness, continuous and parallel-aligned than polyurethane-coated implants. The collagen layer of the polyurethane-induced capsule appears to be disrupted (Fig. 2). It is related with texture of a greater magnitude of the polyurethane foam when compared with textured surface. The polyurethane surface is a porous foam, and the diameter of the pores influences the quality of the tissue ingrowth and it appears that tissue grows into the texture rather than over the texture. As it is not able to grow over the texture, the continuous fibrous capsule is prevented, thus possibly eliminating contraction, as previously described (79). Then, the increase of the total thickness of the capsules, found in this study, was due to the noncollagen layer (newly formed conjunctive tissue). Therefore, despite the polyurethane-coated implant promoted a higher and more intense inflammatory response, it is currently accepted the idea that the degree of capsule thickness is commensurate with the severity of capsular contracture. Such fact has not been definitively proven yet, and some reports have found no correlation between thickness and contracture (80, 145).

Interestingly, in this study we found qualitative differences between the capsules formed around the two types of silicone prostheses. The capsules formed around the polyurethane implants showed an increase in neovascularization, mainly surrounding the polyurethane crystals released into the adjacent tissue (Fig. 3). By using histological staining, we could demonstrate that periprosthetic capsules around textured implant presented reduced recruitment of inflammatory cells and neovascularization, when compared with polyurethane implant (Fig 3 and 4). This is corroborated by a significant increase in the myeloperoxidase expression, a polymorphonuclear marker, in the capsules around polyurethane implants, when compared with textured prostheses (Fig. 4C). Studies comparing textured implants with smooth implants described a major

vascularization in capsules around textured implants (30, 85, 89). The results found in our study showed more vessels surrounding polyurethane-coated implants compared with textured implants.

Moreover, Rubino and colleges (2001) reported that capsules without contracture were thinner and less vascularized than those with contracture in a clinical study of patients with and without contracture using textured implants. This study also suggests that the function of vascularization is uncertain, hypothesizing that it is an essential factor for the development and growth of contracture capsules (121). Interestingly, a specific *in vitro* assay of cell function, comparing polyurethane-coated, smooth and textured implants, stated that on polyurethane foam, which had the least capsule formation, the fibroblast proliferation was decreased while endothelial proliferation was relatively preserved. In contrast, smooth silicone, which has the most capsule formation, demonstrated the greatest fibroblast proliferation. These findings suggest that polyurethane foam stimulates fibroblast proliferation less than the smooth and textured surfaces, while angiogenesis, which is more important in granulation tissue formation and subsequent remodeling, is relatively preserved. Then, the overall interactions of polyurethane with the cellular elements are more favorable than with the other surfaces and that this may contribute to softer scar formation. The degradation of the polyurethane coat and the liberation of foam from polyurethane hydrolysis prevent fibroblasts and endothelial cells from attaching to and contracting collagen *in vivo* by prolonging the acute inflammatory reaction, and then there were differences between surfaces with regard to the effects on cellular functions and morphology⁵³.

One consequence of the inflammatory process is angiogenesis. Growing new blood vessels is a goal for many tissue engineers, as keeping cells alive in large structures that require local blood supply¹¹⁶. Angiogenesis is most probably controlled by a complex interaction of growth factors at both temporal and spatial levels and signalling by VEGF is an essential and rate limiting step in physiological angiogenesis. In our study, the immunohistochemical staining revealed an intense VEGF expression in capsule around the polyurethane implants when compared with the textured implants, both 30 days and 90 days after surgery (Fig. 7B). As it is clearly demonstrated in Figure 7, the cells around the polyurethane crystals were strongly labeled for VEGF, suggesting an

association with the biochemical properties of the polyurethane foam, which induce an enhancement in the expression of VEGF around the periprosthetic capsules, and consequently the vascularity of the tissues around the implants.

Recent studies conducted with porous polyurethane scaffold have demonstrated that VEGF has a short half-life in the body, and the vascularization stimulation of implanted scaffolds has extensively explored polymeric matrices suitable for the sustained delivery of VEGF. To date, it has been unequivocally demonstrated that delivery of VEGF from a biopolymer increases vessel ingrowth into porous scaffolds, as polyurethane foam. Furthermore, the use of VEGF to stabilize new vessels generated by scaffold based delivery is being investigated with promising results^{122, 123}. Our results suggest that the more vascularized tissues the less fibrosis process occurs, and consequently less probability of developing capsule contracture in breast augmentation.

Experimental and clinical studies conclude that the severity of capsular contracture showed a positive linear correlation with the degree of local inflammatory reactions^{24, 107, 124}. The peri-implant capsular tissue is considered by some authors to be an authentic scar reaction (80, 108, 125), and advances in molecular biology have made scarring mechanisms known. Specifically, TGF- β , with its different isoforms (particularly TGF- β 1 and TGF- β 2), is a potent fibrotic, angiogenic, inflammatory mediator and immunomodulator^{108, 126} which stimulates fibroblasts to produce collagen¹⁰⁷. In the same manner, it has been associated with the beginning of periprosthetic capsular fibrosis, with high levels of TGF- β 1 and TGF- β 2 in periprosthetic capsular samples compared with normal breast tissue^{108, 126}

In our study, the immunohistochemical analysis revealed higher levels of TGF- β in the capsules around the polyurethane-coated silicone implants, when compared with the textured surface silicone implant (Fig. 5). This may reflect the more intense and delayed inflammatory reaction promoted by polyurethane-coated implants and, as previously cited, there is evidence that the mechanisms driving fibrogenesis are distinct from those regulating inflammation and more studies with prolonged follow up are needed to elucidate this event.

Another important cellular mediator of fibrosis is the myofibroblast, which when activated serves as the primary collagen-producing cell. Secretion of collagen induced by α -SMA-positive myofibroblasts are activated by a variety of mechanisms. These include autocrine factors, paracrine signals derived from lymphocytes and macrophages, and also pathogen-associated molecular patterns produced by pathogenic organisms that interact with pattern recognition receptors (i.e. TLR) on fibroblasts or the biomaterial itself have molecular patterns that mimic pathogen-associated molecular patterns. Cytokines (IL-13, IL-21, TGF- β), chemokines (MCP-1, MIP1 β) angiogenic factors (VEGF) growth factors (PDGF), peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs), acute phase proteins (SAP), caspases, and components of the renin-angiotensin-aldosterone system have been identified as important regulators of fibrosis⁹². As show in Figure 6, the intensity of the α -SMA expression from the capsule around polyurethane implants was higher when compared with textured surface silicone implant 30 days after surgical. However, this event was not observed 90 days after prostheses implantation.

5. Conclusions

We demonstrated that the polyurethane-coated implants elicit a more intense and prolonged inflammatory response and a stimulation of secretion of inflammatory mediators such TGF- β and VEGF. The stimulation of an angiogenic response with focus on the delivery of growth factors is of great relevance in the regulation of angiogenesis surrounding the implant devices. In accordance with this view, it was observed a high VEGF expression surrounding the prostheses induced by polyurethane crystals, being able to increase the vascularized tissue, resulting in a softer capsule compared with textured surface-silicone implant. In the present study, we have shown that chemical components used in the manufacture of breast implant are not inert, as reflected by inflammatory responses. So, further investigations, with higher follow up periods, using different biomaterials are necessary.

6. References

1. Czerny V. Pastischer Ersatz der Brusthüth durch ein Lipoma. *Zentralbl Chir.* 1895;27:72.
2. Rebello C. Mamaplastia de aumento: algumas considerações científicas sobre a validade do emprego dos implantes de gel de silicone. *Rev bras cir.* 1996;86(5):261-83.
3. Longacre JJ. Correction of the hypoplastic breast with special reference to reconstruction of the "nipple type breast" with local dermo-fat pedicle flaps. *Plast Reconstr Surg* (1946). 1954 Dec;14(6):431-41.
4. Maxwell GP, Gabriel A. The evolution of breast implants. *Clin Plast Surg.* 2009 Jan;36(1):1-13, v.
5. Uchida J. Clinical application of crosslinked dimethylpolysiloxane, restoration fo breast, cheeks, atrophy of infantile paralysis, funnel-shaped chest, etc. *Japanese Journal of Plastic and Reconstructive Surgery.* 1961;4:303.
6. Cronin TD, GeroW FJ. Augmentation mammoplasty:a new natural feel prosthesis. *Transactions of theThird International Congress of Plastic Surgery;* 1963 October 13-18,1963; Amsterdam. 1963. p. 41-9.
7. Gampper TJ, Khoury H, Gottlieb W, Morgan RF. Silicone gel implants in breast augmentation and reconstruction. *Ann Plast Surg.* 2007 Nov;59(5):581-90.
8. Barnsley GP, Sigurdson LJ, Barnsley SE. Textured Surface Breast Implants in the Prevention of Capsular Contracture among Breast Augmentation Patients: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Plast Reconstr Surg.* 2006;117(7):2182-90.
9. Hester TR, Jr., Nahai F, Bostwick J, Cukic J. A 5-year experience with polyurethane-covered mammary prostheses for treatment of capsular contracture, primary augmentation mammoplasty, and breast reconstruction. *Clin Plast Surg.* 1988 Oct;15(4):569-85.
10. Hester TR, Jr., Tebbetts JB, Maxwell GP. The polyurethane-covered mammary prosthesis: facts and fiction (II): a look back and a "peek" ahead. *Clin Plast Surg.* 2001 Jul;28(3):579-86.
11. Hester TRJ, Tebbetts JB, Maxwell GP. The polyurethane-covered mammary prosthesis: facts and fiction. *Clinics in Plastic Surgery.* 2001;28(3):579-86.
12. Cohny BC, Cohny TB, Hearne VA. Nineteen years' experience with polyurethane foam-covered mammary prosthesis: a preliminary report. *Ann Plast Surg.* 1991 Jul;27(1):27-30.
13. Cohny BC. Polyurethane foam covered prostheses. *Br J Plast Surg.* 1992 Oct;45(7):562.
14. Pitanguy I. Estudo retrospectivo das aplicações clínicas da prótese de silicone gel revestida com poliuretano. *Bol Acad Nac Med* 1991;151:67-72.
15. Ashley FL. A new type of breast prosthesis: Prelimiary report. *Plast Reconstr Surg.* 1970;45:421.
16. Capozzi A, Pennisi VR. Clinical experience with polyurethane-covered gel-filled mammary prostheses. *Plast Reconstr Surg.* 1981 Oct;68(4):512-20.
17. Berrino P, Franchelli S, Santi P. Surgical correction of breast deformities following long-lasting complications of polyurethane-covered implants. *Ann Plast Surg.* 1990 Jun;24(6):481-8.
18. Berrino P, Galli A, Rainero ML, Santi PL. Long-lasting complications with the use of polyurethane-covered breast implants. *Br J Plast Surg.* 1986 Oct;39(4):549-53.
19. Vàsquez G, Pellon A. Polyurethane-coated Silicone Gel Brast Implants Used for 18 Years. *Aesth Plast Surg.* 2007;31:330-6.
20. Gasperoni C, Salgarello M, Gargani G. Polyurethane-covered mammary implants: a 12-year experience. *Ann Plast Surg.* 1992 Oct;29(4):303-8.
21. Melmed EP. Treatment of breast contractures with open capsulotomy and replacement of gel prostheses with polyurethane-covered implants. *Plast Reconstr Surg.* 1990 Aug;86(2):270-4.

22. Melmed EP. Polyurethane implants: a 6-year review of 416 patients. *Plast Reconstr Surg.* 1988 Aug;82(2):285-90.
23. Handel N, Cordray T, Gutierrez J, Jensen JA. A long-term study of outcomes, complications, and patient satisfaction with breast implants. *Plast Reconstr Surg.* 2006 Mar;117(3):757-67; discussion 68-72.
24. Poepl N, Schreml S, Lichteneger F, Lenich A, Eisenmann-Klein M, Prantl L. Does the surface structure of implants have an impact on the formation of a capsular contracture? *Aesth Plast Surg.* 2007;31:133-9.
25. Adams WP. Capsular contracture: What is it? What causes it? How can it be prevented and managed? *Clin Plast Surg.* 2009;36:119-26.
26. Spear SL, Bulan EJ, Venturi ML. Breast augmentation. *Plast Reconstr Surg.* 2006 Dec;118(7 Suppl):188S-96S; discussion 97S-98S.
27. McLaughlin JK, Lipworth L, Murphy DK, Walker PS. The safety of silicone gel-filled breast implants: a review of the epidemiologic evidence. *Ann Plast Surg.* 2007 Nov;59(5):569-80.
28. Danino AM, Basmacioglu P, Saito S, Rocher F, Blanchet-Bardon C, Revol M, et al. Comparison of the capsular response to the Biocell RTV and Mentor 1600 Siltex breast implant surface texturing: a scanning electron microscopic study. *Plast Reconstr Surg.* 2001 Dec;108(7):2047-52.
29. Artz JS, Dinner MI, Foglietti MA, Sampliner J. Breast reconstruction utilizing subcutaneous tissue expansion followed by polyurethane-covered silicone implants: a 6-year experience. *Plast Reconstr Surg* 1991;88(4):635-9.
30. Bastos EM, Neto MS, Alves MT, Garcia EB, Santos RA, Heink T, et al. Histologic analysis of zafirlukast's effect on capsule formation around silicone implants. *Aesthetic Plast Surg.* 2007 Sep-Oct;31(5):559-65.
31. Friedman HI, Giurgiutiu V, Bender J, Crachiolo G, Yost MJ. A biomechanical and morphologic analysis of capsule formation around implanted piezoelectric wafer active sensors in rats treated with cyclooxygenase-2 inhibition. *Annals of Plastic Surgery* 2008;60(2):198-203.
32. Gancedo M, Ruiz-Corro L, Salazar-Montes A, Rincon AR, Armendariz-Borunda J. Pirfenidone prevents capsular contracture after mammary implantation. *Aesthetic Plast Surg.* 2008 Jan;32(1):32-40.
33. Canter HI, Konas E, Bozdogan O, Vargel I, Ozbatur B, Oner F, et al. Effect of slow-release 5-Fluorouracil on capsule formation around silicone breast implants: an experimental study with mice. *Aesthetic Plast Surg.* 2007 Nov-Dec;31(6):674-9.
34. Scuderi N, Mazzocchi M, Fioramonti P, Bistoni G. The effects of zafirlukast on capsular contracture: preliminary report. *Aesthetic Plast Surg.* 2006 Sep-Oct;30(5):513-20.
35. Baker JIJ. Augmentation Mammoplasty: A Comparative Analysis. *Plast Reconstr Surg.* 1999;103:1763.
36. Cunningham B. The Mentor Study on contour profile gel silicone MemoryGel breast implants. *Plast Reconstr Surg.* 2007;120(33S).
37. Bengtson BP, Van Natta BW, Murphy DK. Style 410 highly cohesive silicone breast implant core study results at 3 years. *Plast Reconstr Surg.* 2007;120(40S).
38. Janowsky EC, Kupper LL, Hulka BS. Meta-analyses of the relation between silicone breast implant and the risk of connective-tissue diseases. *N Engl J Med.* 2000;342(11):781-90.
39. Brinton LA, Brown SL. Breast implants and cancer. Review. *J Natl Cancer Inst.* 1997;89(13):141-9.
40. Court B, Auvert V, Sausse A, Diep R. Remplacement d'un segment l'urètre par un tube d'elastomère de silicone chez le chien mâle. *J Urol Nephrol.* 1971;77(12):562-4.
41. Carpaneda CA. Inflammatory Reaction and Capsular Contracture Around Smooth Silicone Implants. *Aesth Plast Surg.* 1997;21:110-4.

42. Nogueira MP. Uso do silicone e poliuretano na uretroplastia dorsal: um estudo experimental em coelhos. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2008.
43. Savatore JE, P. MM. Poliurethane polymer, its use in osseus lesions: an experimental study. *Ann Surg.* 1959;149(1):107-9.
44. Zdrala RJ, Zdrala IJ. Biomedical applications of poliurethanes: a review of past promises, present realities, and a vibrant future. *J Biomater Appl.* 1999;14(1):67-90.
45. Kerrigan CA. Report on the Meme breast implant Montreal: McGill University. 1989.
46. Segal M. A Status report on breast implant safety. FDA Consum. Publication FDA nº 97-4262. 1995.
47. Miró AL. Próteses mamárias revestidas com poliuretano: avaliação de 14 anos de experiência. *Rev Bras Cir Plást.* 2009;24(3):296-303.
48. Brinton LA, Brown SL. Breast implants and cancer. *J Natl Cancer Inst.* 1997 Sep 17;89(18):1341-9.
49. Hester TR, Jr., Ford NF, Gale PJ, Hammett JL, Raymond R, Turnbull D, et al. Measurement of 2,4-toluenediamine in urine and serum samples from women with Meme or Replicon breast implants. *Plast Reconstr Surg.* 1997 Oct;100(5):1291-8.
50. Vazquez G. A ten-year experience using polyurethane-covered breast implants. *Aesthetic Plast Surg.* 1999 May-Jun;23(3):189-96.
51. Vazquez G, Pellon A. Polyurethane-coated silicone gel breast implants used for 18 years. *Aesthetic Plast Surg.* 2007 Jul-Aug;31(4):330-6.
52. Brand G. Foam-covered mamary implants. *Clin Plast Surg.* 1984;73:498.
53. Sank A, Chalabian-Baliozian J, Ertl D, Sherman R, Nimni M, Tuan TL. Cellular responses to silicone and polyurethane prosthetic surfaces. *J Surg Res.* 1993 Jan;54(1):12-20.
54. Picha GJ, Goldstein JA, Stohr E. Natural-Y Meme polyurethane versus smooth silicone: analysis of the soft-tissue interaction from 3 days to 1 year in the rat animal model. *Plast Reconstr Surg.* 1990 Jun;85(6):903-16.
55. Anderson JM, Rodriguez A, Chang DT. Foreign body reaction to biomaterialss. *Seminars in Immunology.* 2008;20:86-100.
56. Henson PM. The immunologic release of constituents from neutrophil leukocytes. II. Mechanisms of release during phagocytosis, and adherence to nonphagocytosable surfaces. *J Immunol.* 1971;107(6):1547-57.
57. Barone FE, Perry L, Keller T, Maxwell GP. The biomechanical and histopathologic effects of surface texturing with silicone and polyurethane in tissue implantation and expansion. . *Plast Reconstr Surg.* 1992;90(1):77-86.
58. Dunn KW, Hall PN, Khoo CT. Breast implant materials: sense and safety. *Br J Plast Surg.* 1992 May-Jun;45(4):315-21.
59. Picha GJ, Goldstein JA. Analysis of the soft-tissue response to components used in the manufacture of breast implants: rat animal model. *Plast Reconstr Surg.* 1991 Mar;87(3):490-500.
60. Collis N, Coleman D, Foo IT, Sharpe DT. Ten-year review of a prospective randomized controlled trial of textured versus smooth subglandular silicone gel breast implants. *Plast Reconstr Surg.* 2000 Sep;106(4):786-91.
61. Wong CH, Samuel M, Tan BK, Song C. Capsular contracture in subglandular breast augmentation with textured versus smooth breast implants: a systematic review. *Plast Reconstr Surg.* 2006 Oct;118(5):1224-36.
62. Unlu RE, Yilmaz AD, Orbay H, Can B, Tekdemir I, Sensoz O. Influence of rifampin on capsule formation around silicone implants in a rat model. *Aesthetic Plast Surg.* 2007 Jul-Aug;31(4):358-64.

63. Becker H, Springer R. Prevention of capsular contracture. *Plast Reconstr Surg.* 1999 May;103(6):1766-8; discussion 9-74.
64. Becker H, Springer RARNP. Prevention of Capsular Contracture. *Plast Reconstr Surg.* 1999;103:1766.
65. Mladick RA. "No-Touch" submuscular saline breast augmentation technique *Aesth Plast Surg.* 1993;17:183.
66. Burkhardt BR. Prevention of capsular contracture (Discussion). *Plast Reconstr Surg.* 1999;103:1769.
67. Tarpila E, Ghassemifar R, Fagrell D, Berggren A. Capsular contracture with textured versus smooth saline-filled implants for breast augmentation: a prospective clinical study. *Plast Reconstr Surg.* 1997 Jun;99(7):1934-9.
68. Fagrell D, Berggren A, Tarpila E. Capsular contracture around saline-filled fine textured and smooth mammary implants: a prospective 7.5-year follow-up. *Plast Reconstr Surg.* 2001 Dec;108(7):2108-12; discussion 13.
69. Mladick RA. A. Prevention of capsular contracture (Discussion). *Plast Reconstr Surg.* 1999;103:1773.
70. Biggs TM. Augmentation mammoplasty: a comparative analysis. *Plast Reconstr Surg.* 1999 May;103(6):1761-2; discussion 3-5.
71. Hakelius L, Ohlsen L. Tendency to capsular contracture around smooth and textured gel-filled silicone mammary implants: a five-year follow-up. *Plast Reconstr Surg.* 1997 Nov;100(6):1566-9.
72. Minami E, Koh IH, Ferreira JC, Waitzberg AF, Chifferi V, Rosewick TF, et al. The composition and behavior of capsules around smooth and textured breast implants in pigs. *Plast Reconstr Surg.* 2006 Sep 15;118(4):874-84.
73. Malata CM, Feldberg L, Coleman DJ, Foo IT, Sharpe DT. Textured or smooth implants for breast augmentation? Three year follow-up of a prospective randomised controlled trial. *Br J Plast.* 1997;50(2).
74. Burkhardt BR, Demas CP. The effect of Siltex texturing and povidone-iodine irrigation on capsular contracture around saline inflatable breast implants. *Plast Reconstr Surg.* 1994 Jan;93(1):123-8; discussion 9-30.
75. Burkhardt BR, Eades E. The effect of Biocell texturing and povidone-iodine irrigation on capsular contracture around saline-inflatable breast implants. *Plast Reconstr Surg.* 1995 Nov;96(6):1317-25.
76. Coleman DJ, Sharpe DT, Naylor IL, Chander CL, Cross SE. The role of the contractile fibroblast in the capsules around tissue expanders and implants. *Br J Plast Surg.* 1993;46(7):547.
77. Bastos ÉM, Neto MS, Ferreira LM, Garcia ÉB, Liebano RE, Han YA. Experimental Model of capsular contracture in silicone implants. *Acta Cir Bras* 2003;18(22-27).
78. Zimman OA, Toblli J, Stella I, Ferder M, Ferder L, Inserra F. The effects of angiotensin-converting enzyme inhibitors on the fibrous envelope around mammary implants. *Plast Reconstr Surg* 2007;120(7):2025-33.
79. Brohim RM, Foresman PA, Hildebrandt PK, Rodeheaver GT. Early tissue reaction to textured breast implant surfaces. *Ann Plast Surg.* 1992 Apr;28(4):354-62.
80. Smahel J. Histology of the capsules causing constrictive fibrosis around breast implants. *Plast Reconstr Surg.* 1977;30:324.
81. Ginsbach G, Busch LC, Kuhnel W. The nature of the collagenous capsules around breast implants: Light and electron microscopic investigations. *Plast Reconstr Surg.* 1979;74:456.
82. Junqueira LC, Bignolas G, Brentani RR. Picrosirius staining polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. *Histochem.* 1979;11:447-55.

83. Montes GS, Junqueira LC. The use of the Picrossirius-polarization method for the study of the biopathology of collagen. *Men Inst Oswaldo Cruz*. 1991;86(3):1-11.
84. Cotran RS, Kumar V, Collins T. Acute and chronic inflammation. . In: Saunders WB, editor. *Robbins pathologic basis of disease* 1999. p. 50-88.
85. Bucky LP, Ehrlich HP, Sohoni S, May JW, Jr. The capsule quality of saline-filled smooth silicone, textured silicone, and polyurethane implants in rabbits: a long-term study. *Plast Reconstr Surg*. 1994 May;93(6):1123-31; discussion 32-3.
86. Bern S, Burd A, May JW. The biophysical and histologic properties of capsules formed by smooth and textured silicone implants in the rabbit. . *Plast Reconstr Surg* 1992;89:1037-42.
87. Caffee HH. Textured silicone and capsule contracture. . *Ann Plast Surg*. 1990;24(197-9).
88. Brohim RM, Foresman PA, Grant GM, Merickel MB, Rodeheaver GT. Quantitative monitoring of capsular contraction around smooth and textured implants. . *Ann Plast Surg* 1993;30:424-34.
89. Clugston PA, Perry LC, Hammond DC, Maxwell GP. A rat model for capsular contracture: the effects of surface texturing. *Ann Plast Surg*. 1994 Dec;33(6):595-9.
90. Ksander GA, Vistnes LM, Kosek J. Effect of implant location on compressibility and capsule formation around miniprotheses in rats, and experimental capsule contracture. *Ann Plast Surg*. 1981 Mar;6(3):182-93.
91. Mendes PR, Bins-Ely J, Lima EAS, Vasconcellos ZAA, d'Acampora AJ, d' Eça Neves R. Histological study on acute inflammatory reaction to polyurethane-coated silicone implants in rats. *Acta Cir Bras*. 2008;23(1):93-101.
92. Wynn TA. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *J Pathol*. 2008 Jan;214(2):199-210.
93. Woods RL. A histologic comparison of hidron and zinc oxide eugenol as endodontic filling materials in primay teeth of dogs. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1994;58:82-93.
94. Williams DF. On the mechanisms of biocompatibility. *Biomaterials*. 2008 Jul;29(20):2941-53.
95. Larsen GL, Henson PM. Mediators of inflammation. *Annu Rev Immunol*. 1983;1:335-59.
96. Takahashi H. Microbiological, pathological, inflammatory, immunological and molecular biological aspects of periradicular disease. *Int Endod J*, . 1998;31:311-25.
97. Dalu A, Blaydes BS, Lomax LG, Delclos KB. A comparison of the inflammatory response to a polydimethylsiloxane implant in male and female Balb/c mice. *Biomaterials*. 2000 Oct;21(19):1947-57.
98. Kumar V, Cortran RS, Robbins SL. *Inflamação aguda e crônica*. *Patologia Básica*. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 1994.
99. Consolaro A. *Inflamação e Reparo: Um sílabo para a compreensão clínica e implicações terapêuticas*. Maringá; 2009.
100. Roitt I, Brostoff J, Male D. Citocinas e receptors das citocinas. In: Manole, editor. *Immunologia*. 6ª ed. São Paulo; 2002. p. 119-41.
101. Huang TH. Inflammatory cytokines reaction elicited by root-end filling materials. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2005;73(1):123-8.
102. Minamikawa H, Deyama Y, Nakamura K, Yoshimura Y, Kaga M, Suzuki K, et al. Effect of mineral trioxide aggregate on rat clonal dental pulp cells: expression of cyclooxygenase-2 mRNA and inflammation-related protein via nuclear factor kappa B signaling system. *J Endod*. 2009 Jun;35(6):843-6.
103. Lee YJ. Eugenol modulates cyclooxygenase-2 expression through the activation of nuclear factor kappa B in human osteoblasts. *J Endod*. 2007;33(10):1177-82.
104. Hayden MS, West AP, Ghosh S. NF-kappaB and the immune response. *Oncogene*. 2006 Oct 30;25(51):6758-80.

105. Guven G, Altun C, Gunhan O, Gurbuz T, Basak F, Akbulut E, et al. Co-expression of cyclooxygenase-2 and vascular endothelial growth factor in inflamed human pulp: an immunohistochemical study. *J Endod*. 2007 Jan;33(1):18-20.
106. Soder BL, Propst JT, Brooks TM, Goodwin RL, Friedman HI, Yost MJ, et al. The Connexin43 Carboxyl-Terminal Peptide ACT1 Modulates the Biological Response to Silicone Implants. *Plast Reconstr Surg*. 2009;123(5):1440-51.
107. Prantl L, Schreml S, Fichtner-Feigl S, Poppl N, Eisenmann-Klein M, Schwarze H, et al. Clinical and morphological conditions in capsular contracture formed around silicone breast implants. *Plast Reconstr Surg*. 2007 Jul;120(1):275-84.
108. Ruiz-de-Erenchum R, Herreras Ddl, Hontanilla B. Use of the Transforming Growth Factor-1 Inhibitor Peptide in Periprosthetic Capsular Fibrosis: Experimental Model with Tetraglycerol Dipalmitate. *Plast Reconstr Surg*. 2005;116(5).
109. Baker J, L. , Jr., Chander CL, LeVier R, R. Occurrence and activity of myofibroblasts in human capsular tissue surrounding mammary implants. *Plast Reconstr Surg*. 1992;90(77).
110. Botero TM, Shelburne CE, Holland GR, Hanks CT, Nor JE. TLR4 mediates LPS-induced VEGF expression in odontoblasts. *J Endod*. 2006 Oct;32(10):951-5.
111. Ferrara N. Molecular and biological properties of vascular endothelial growth factor. *J Mol Med*. 1999 Jul;77(7):527-43.
112. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med*. 2003 Jun;9(6):669-76.
113. Nissen NN. Vascular endothelial growth factor mediates angiogenic activity during the phase of wound healing. . *Am J Pathol*. 1998;152(6):1445-52.
114. Iniguez MA, Rodriguez A, Volpert OV, Fresno M, Redondo JM. Cyclooxygenase-2: a therapeutic target in angiogenesis. *Trends Mol Med*. 2003 Feb;9(2):73-8.
115. Majima M. Cyclo-oxygenase-2 enhances basic fibroblast growth factor-induced angiogenesis through induction of vascular endothelial growth factor in rat sponge implants. . *Br J Pharmacol*. 2002;130:641-9.
116. Jones KS. Effects of biomaterial-induced inflammation on fibrosis and rejection. *Seminars in Immunology*. 2008;20:130-6.
117. Siggelkow W, Faridi A, Spiritus K, Kluge U, Rath W, Klosterhalfen B. Histological analysis of silicone breast implant capsules and correlation with capsular contracture. *Biomaterials*. 2003;24:1101-9.
118. Danino A, Rocher F, Blanchet-Bardon C. A scanning electron microscopy study of porous-textured breast implants and their capsules. Description of the "Velcro" effect of porous textured breast prostheses. *Ann Chir Plast Esthet*. 2001;46:23.
119. Batra M, Bernard S, Picha G. Histologic comparison of breast implant shells with smooth, foam, and pillar microstructuring in a rat model from 1 day to 6 months. *Plast Reconstr Surg*. 1995 Feb;95(2):354-63.
120. Santerre JP, Woodhouse K, Laroche G, Labow RS. Understanding the biodegradation of polyurethanes: from classical implants to tissue engineering materials. *Biomaterials*. 2005 Dec;26(35):7457-70.
121. Rubino C, Mazzarello V, Farace F, D'Andrea F, Montella A, Fenu G, et al. Ultrastructural anatomy of contracted capsules around textured implants in augmented breasts. *Ann Plast Surg*. 2001;46:95-113.
122. Davies N, Dobner S, Bezuidenhout D, Schmidt C, Beck M, Zisch AH, et al. The dosage dependence of VEGF stimulation on scaffold neovascularisation. *Biomaterials*. 2008 Sep;29(26):3531-8.

123. Schmidt C, Bezuidenhout D, Beck M, Van der Merwe E, Zilla P, Davies N. Rapid three-dimensional quantification of VEGF-induced scaffold neovascularisation by microcomputed tomography. *Biomaterials*. 2009 Oct;30(30):5959-68.
124. Moreira M, Fagundes DJ, Simões MJ, Oliveira MCBM, Previdelli ITS, Moreira AC. Zafirlukast Pocket Delivery Impairs the Capsule Healing Around Textured Implants in Rats. *Aesth Plast Surg*. 2009;33:90-7.
125. Carter D. Tissue reaction to breast implants. *AmJ Clin Pathol*. 1994;102:565.
126. Khun A, Singh S, Smith PD. Periprosthetic breast capsules contain the fibrogenic cytokines TGF β 1 and TGF β 2, suggesting possible new treatment approaches. *Annals of Plastic Surgery*. 2000;44:387.
127. Benlier E, Unal Y, Usta U, Top H, Auygit A. Effect of Verapamil on Reduction of Peri-implant Capsular Thickness. *Aesth Plast Surg*. 2008;33.
128. Embrey M, Adams EE, Cunningham B, Peters W, Young VL, Carlo GL. A Review of the Literature on the Etiology of Capsular Contracture and a Pilot Study to Determine the Outcome of Capsular Contracture Interventions. *Aesth Plast Surg*. 1999;23(3):197-206.
129. Bern S, Burd A, May JWJ. The Biophysical and Histologic Properties of Capsules Formed by Smooth and Textured Silicone Implants in the Rabbit. *Plast Reconstr Surg*. 1992;89(6):1037-44.
130. Ersek RA. Molecular impact surface textured implants (MISTI) alter beneficially capsule formation at 36 months. *J Long Term Eff Med Implants*. 1991;1(879).
131. Lilla JA, Vistes LM. Long study of reactions to various silicone breast implants in rabbits. *Plast Reconstr Surg*. 1976;57:668.
132. Burkhardt BR, Fried M, Schnur PL, Tofield JJ. Capsules, infection, and intraluminal antibiotics. *Plast Reconstr Surg*. 1981 Jul;68(1):43-9.
133. Tomasek JJ, Gabbiani G, Hinz B, Chaponnier C, Brown RA. Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodelling. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2002 May;3(5):349-63.
134. Li MO, Wan YY, Sanjabi S, Robertson AK, Flavell RA. Transforming growth factor-beta regulation of immune responses. *Annu Rev Immunol*. 2006;24:99-146.
135. Otrock ZK, Makarem JA, Shamseddine AI. Vascular endothelial growth factor family of ligands and receptors: review. *Blood Cells Mol Dis*. 2007 May-Jun;38(3):258-68.
136. Knetsch ML, Koole LH. VEGF-E enhances endothelialization and inhibits thrombus formation on polymeric surfaces. *J Biomed Mater Res A*. 2009 May 29.
137. Greisler HP, Gosselin C, Ren D, Kang SS, Kim DU. Biointeractive polymers and tissue engineered blood vessels. *Biomaterials*. 1996 Feb;17(3):329-36.
138. Howdieshell TR, Callaway D, Webb WL, Gaines MD, Procter CD, Jr., Sathyanarayana, et al. Antibody neutralization of vascular endothelial growth factor inhibits wound granulation tissue formation. *J Surg Res*. 2001 Apr;96(2):173-82.
139. Ito Y, Hasuda H, Terai H, Kitajima T. Culture of human umbilical vein endothelial cells on immobilized vascular endothelial growth factor. *J Biomed Mater Res A*. 2005 Sep 15;74(4):659-65.
140. Koch S, Yao C, Grieb G, Prevel P, Noah EM, Steffens GC. Enhancing angiogenesis in collagen matrices by covalent incorporation of VEGF. *J Mater Sci Mater Med*. 2006 Aug;17(8):735-41.
141. Ibrahim Canter H, Konas E, Bozdogan O, Vargel I, Ozbatur B, Oner F, et al. Effect of slow-release 5-Fluorouracil on capsule formation around silicone breast implants: an experimental study with mice. *Aesthetic Plast Surg*. 2007 Nov-Dec;31(6):674-9.
142. Medeiros R, Rodrigues GB, Figueiredo CP, Rodrigues EB, Grumman A, Jr., Menezes-de-Lima O, Jr., et al. Molecular mechanisms of topical anti-inflammatory effects of lipoxin A(4) in endotoxin-induced uveitis. *Mol Pharmacol*. 2008 Jul;74(1):154-61.

143. Vitor CE, Figueiredo CP, Hara DB, Bento AF, Mazzuco TL, Calixto JB. Therapeutic action and underlying mechanisms of a combination of two pentacyclic triterpenes, alpha- and beta-amyrin, in a mouse model of colitis. *Br J Pharmacol*. 2009 Jul;157(6):1034-44.
144. Siggelkow W, Faridi A, Spiritus K, Klige U, Rath W, Klosterhalfen B. Histological analysis of silicone breast implant capsules and correlation with capsular contracture. *Biomaterials*. 2003;24:1101-9.
145. Adams WP, Jr., Haydon MS, Raniere J, Jr., Trott S, Marques M, Feliciano M, et al. A rabbit model for capsular contracture: development and clinical implications. *Plast Reconstr Surg*. 2006 Apr;117(4):1214-9; discussion 20-1.

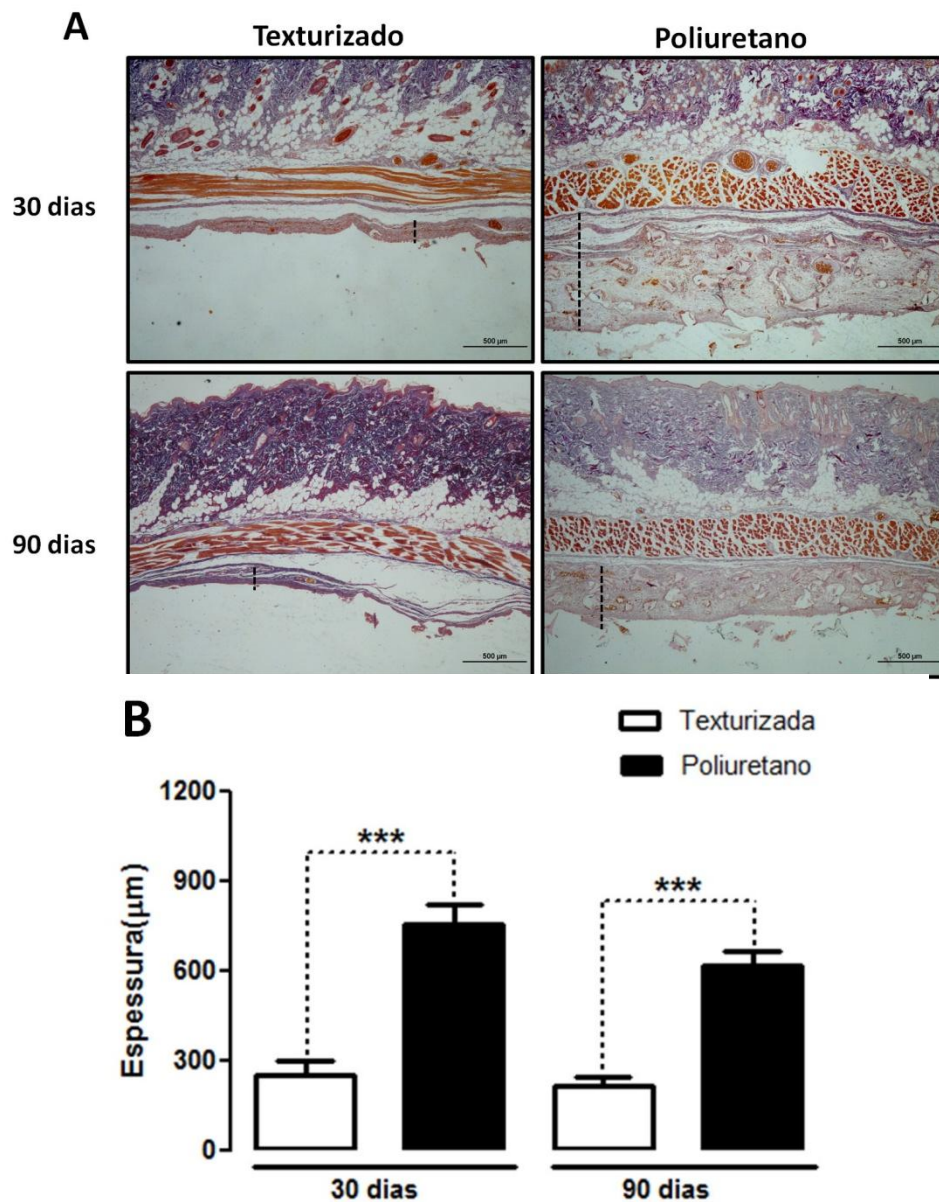


Figure 1 – The periprosthetic tissue thickness observed under conventional light microscopy. (A) Representative histological images of Masson's trichrome staining of capsular tissue after implantation of polyurethane or textured-silicone prosthesis giving emphasis to the capsule thickness. Scale bar = 500 μm . **(B)** Graphic representation of the thickness average of the pericapsular tissue. The capsule thickness (μm) was measured in the largest portion of each randomised field (8 images per animal) and the results were expressed as mean \pm S.E.M. (n=3-11). *** $P < 0.001$ (ANOVA and Newman Keuls test).

FONTE: Vilberto José Vieira (Autor) e Cláudia Pinto Figueiredo

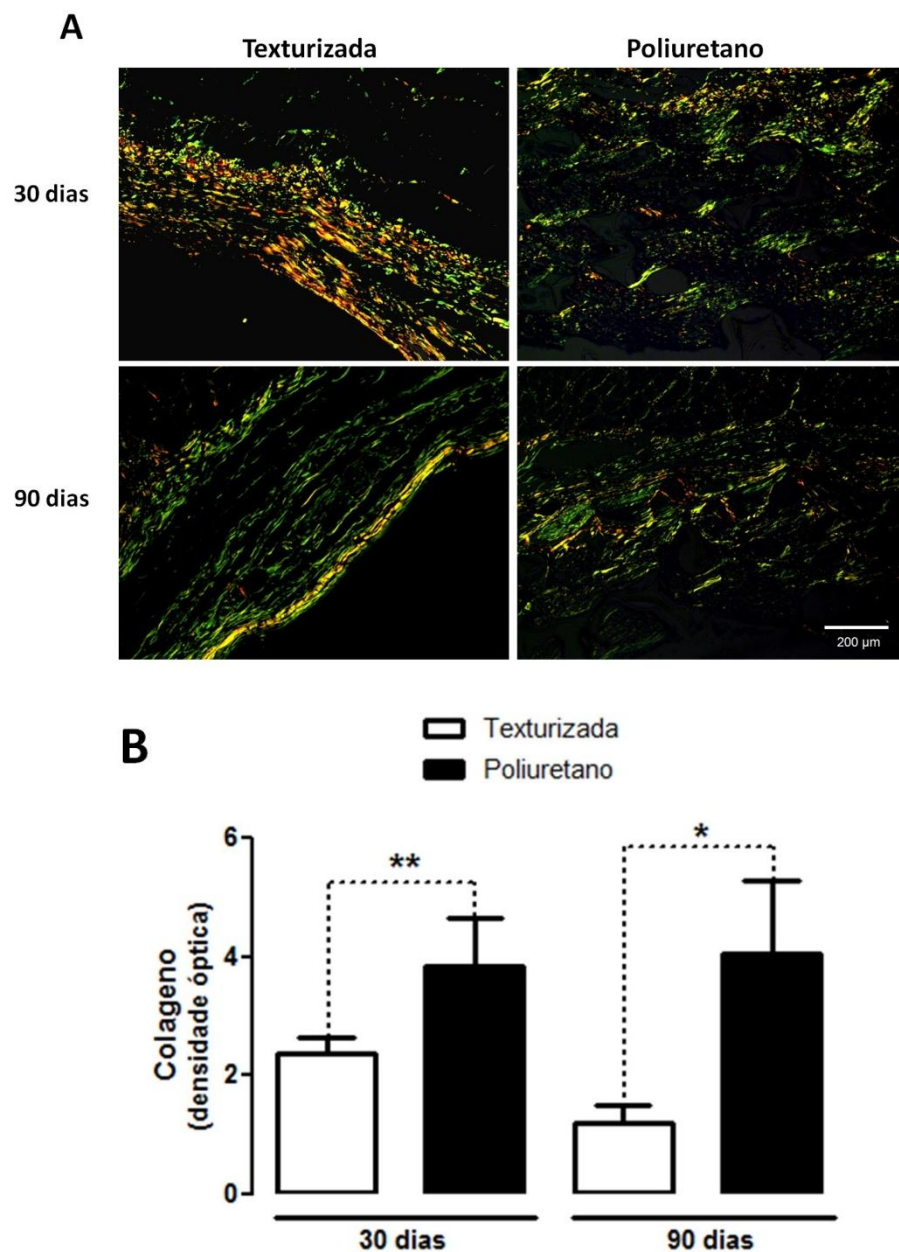


Figure 2 – The periprosthetic tissue observed under conventional light microscopy, using polarized light. (A) Capsule showing collagenous fibers as birefringent structures, which shine against a dark background when examined under polarized light. Scale bar = 200 μm . (B) Graphic representation of the percentage of collagen in the total thickness capsules. The density of collagenous fibers was determined through imaging software, and the data were expressed as optical density (O.D.). The data represent the average value obtained by the analysis of images of periprosthetic capsule and the results were expressed as mean \pm S.E.M. (n=3-11). * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ (ANOVA and Newman Keuls test). FONTE: Vilberto José Vieira (Autor) e Cláudia Pinto Figueiredo

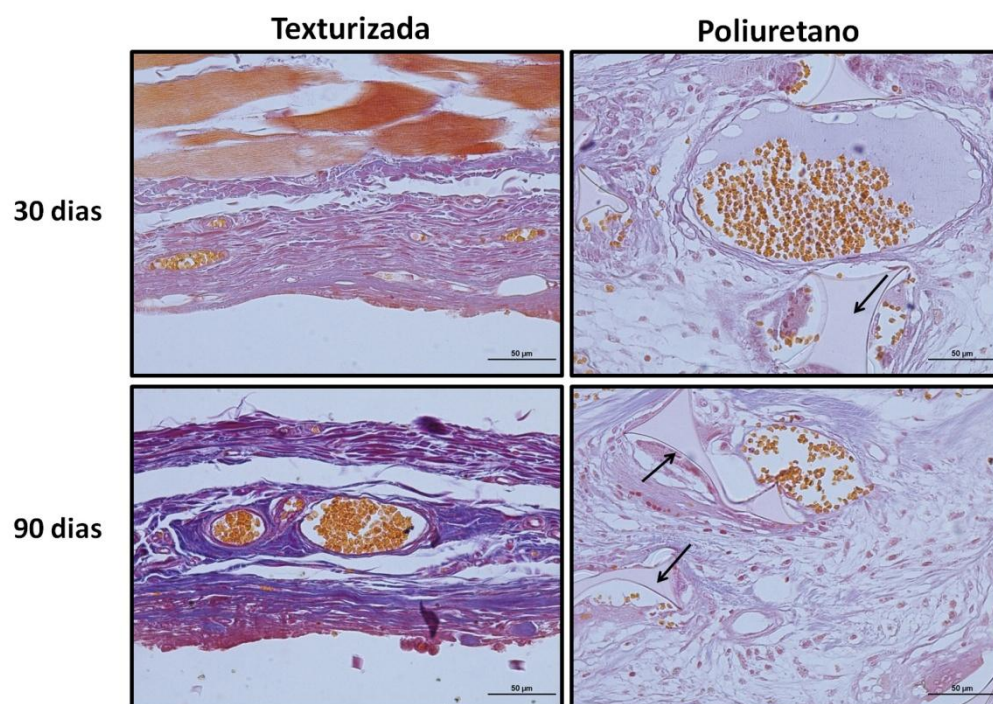


Figure 3 – The periprosthetic tissue morphology observed under conventional light microscopy. Representative histological images of Masson's trichrome staining of capsular tissue after implantation of polyurethane or textured-silicone prosthesis giving emphasis to the blood vessels. The arrows indicate polyurethane crystals. Scale bar = 50 μ m.

FONTE: Vilberto José Vieira (Autor) e Cláudia Pinto Figueiredo

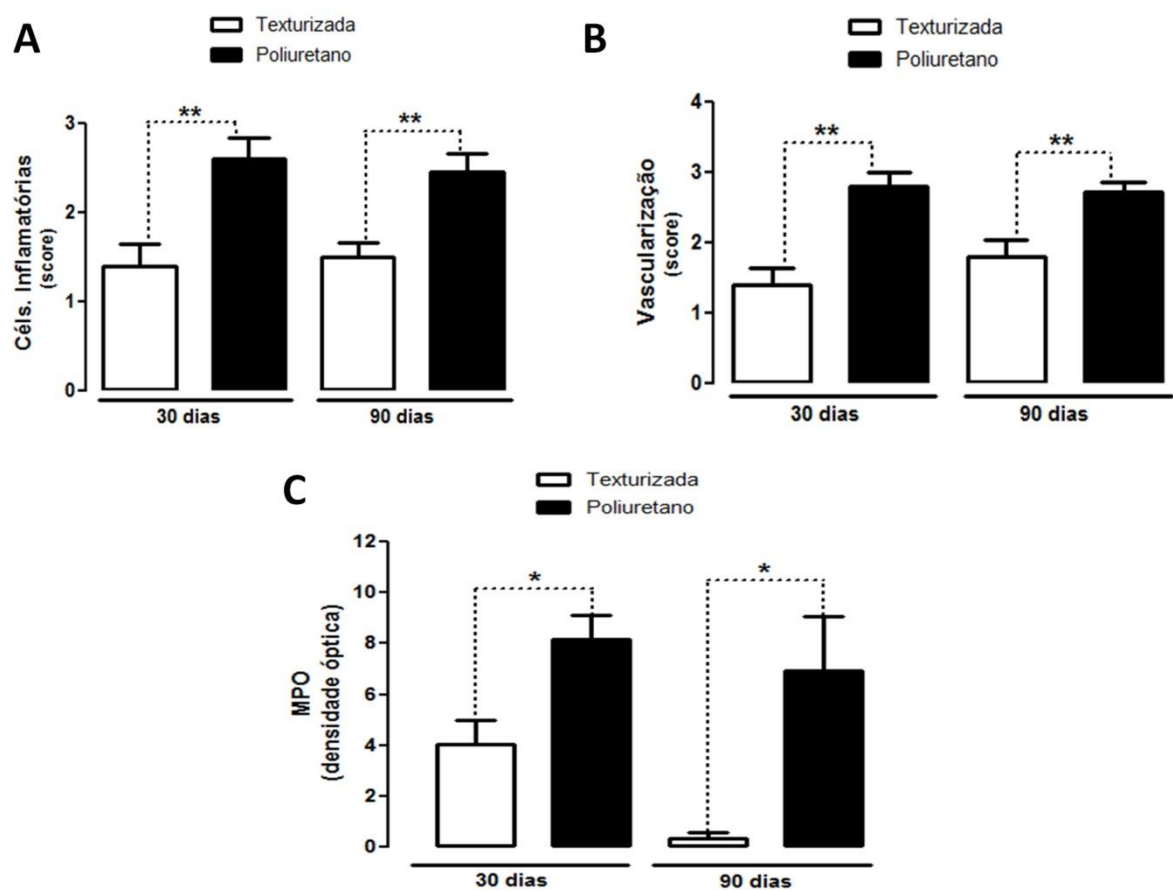


Figure 4 – The vascularization and inflammatory cells of the pericapsular tissue. The histological changes in each sample were analyzed in haematoxylin-eosin staining of capsule tissue section, which were graded from 0 to 3. Graphic representation of the inflammatory cells (A), and vascularization (B) score in the capsule tissue. (C) Graphic representation of the myeloperoxidase immunostaining, a polymorphonuclear marker, in the capsules around polyurethane and textured-silicone prostheses. The results were expressed as mean \pm S.E.M. (n=3-11). ** $P < 0.01$ (Kruskal-Wallis followed by Dunn's test or ANOVA and Newman Keuls test).

FONTE: Vilberto José Vieira (Autor) e Cláudia Pinto Figueiredo

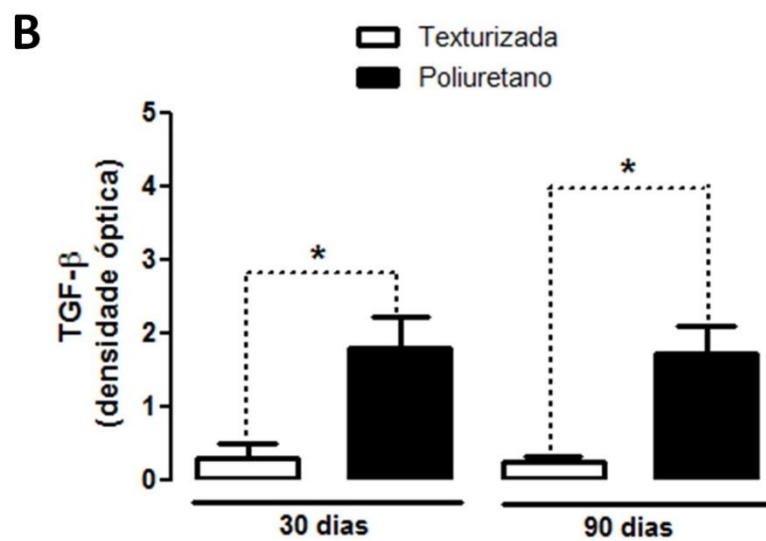
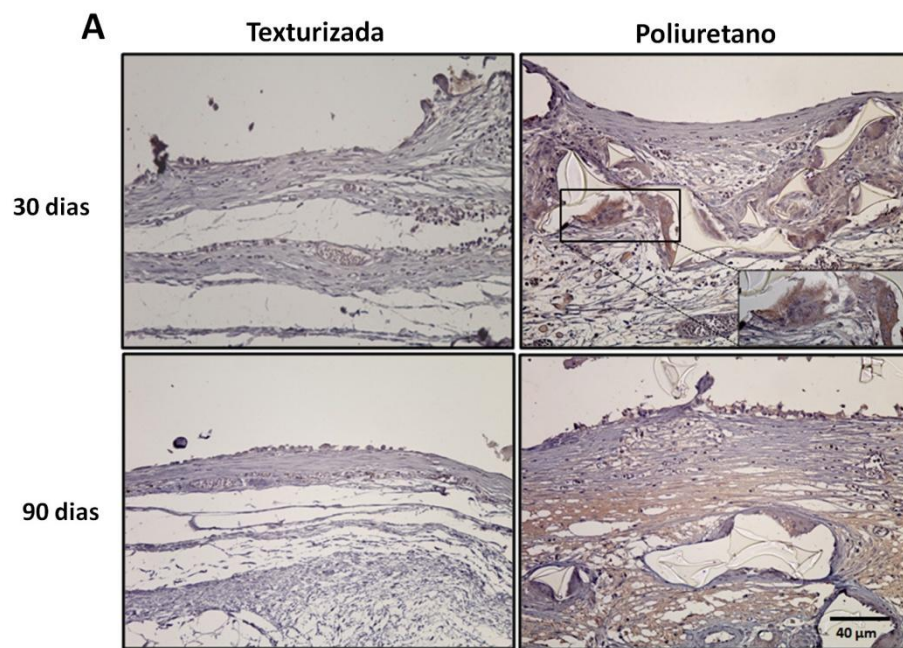


Figure 5 - Immunohistochemical analysis for transforming growth factor- β (TGF- β) in the capsule tissue around polyurethane and textured-silicone prostheses. (A) Representative images of TGF- β immunostaining in periprosthetic tissue. The inset shows a high magnification of the cells that surround the polyurethane crystals. Scale bar = 40 μ m. (B) Graphic representation of the average immunostaining for TGF- β . The data represent the average value obtained by the analysis of images of periprosthetic capsule and the results were expressed as mean \pm S.E.M. (n=3-11). * P < 0.05 (ANOVA and Newman Keuls test).

FONTE: Vilberto José Vieira (Autor) e Cláudia Pinto Figueiredo

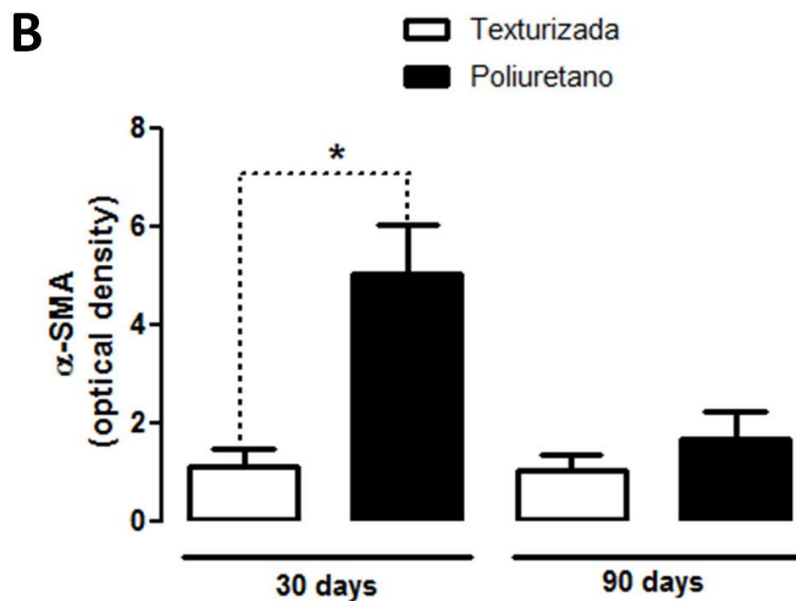
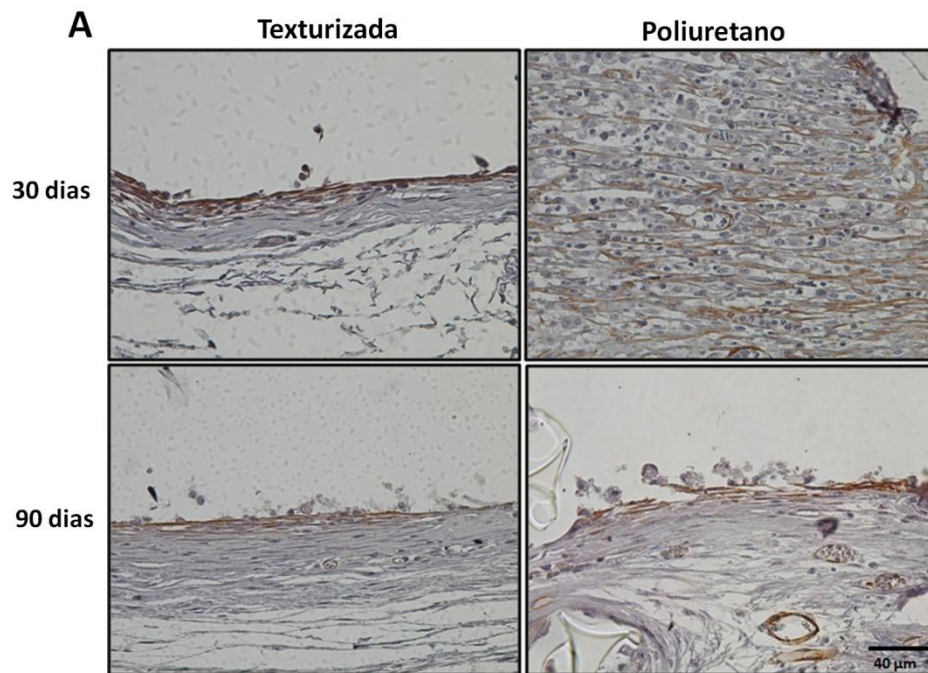


Figure 6 - Immunohistochemical analysis for α -smooth muscle actin (α -SMA) in the capsule tissue around polyurethane and textured-silicone prostheses. (A) Representative images of α -SMA immunostaining (a marker of myofibroblasts) in periprosthetic tissue. Scale bar = 40 μ m. (B) Graphic representation of the average immunostaining for α -SMA. The data represent the average value obtained by the analysis of images of periprosthetic capsule and the results were expressed as mean \pm S.E.M. (n=3-11). * P < 0.001 (ANOVA and Newman Keuls test).**

FONTE: Vilberto José Vieira (Autor) e Cláudia Pinto Figueiredo

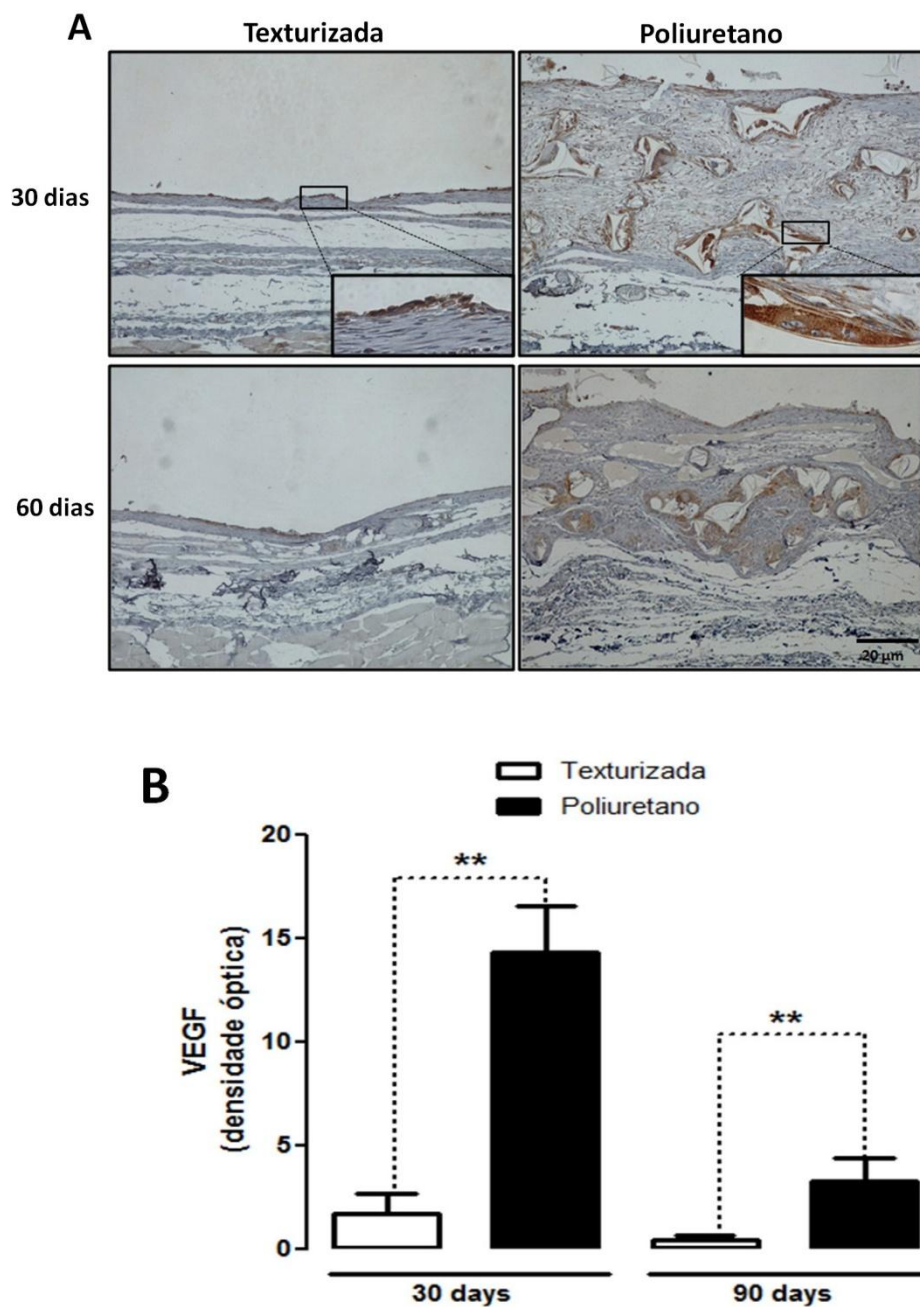


Figure 7 - Immunohistochemical analysis for vascular endothelial grow factor (VEGF) in the capsule tissue around polyurethane and textured-silicone prostheses. (A) Representative images of VEGF immunostaining in periprosthetic tissue. The inset shows an intense VEGF expression in the cells that surround the polyurethane crystals. Scale bar = 40 μ m. (B) Graphic representation of the average immunostaining for VEGF. The data represent the average value obtained by the analysis of images of periprosthetic capsule and the results were expressed as mean \pm S.E.M. (n=3-11). * $P < 0.05$ (ANOVA and Newman Keuls test).

FONTE: Vilberto José Vieira (Autor) e Cláudia Pinto Figueiredo